DIE NATURWISSENSCHAFTEN

30. Jahrgang — 5. Juni 1942 — Heft 23/24

HEINRICH WIELAND

ZU SEINEM 65. GEBURTSTAG AM 4. JUNI 1942

MIT HERZLICHEN GLÜCKWÜNSCHEN

GEWIDMET VON

SCHÜLERN UND FREUNDEN

Heft 23/24.

Die Arbeiten H. Wielands auf dem Gebiet der Steroide. Von ELISABETH DANE.

H. Wielands Arbeiten zum Mechanismus der biologischen Oxydation. Von WILHELM FRANKE.

Die Stickstoffarbeiten von H. Wieland. Von FRIEDRICH KLAGES.

Die Arbeiten Heinrich Wielands über stickstoffhaltige Naturstoffe (Alkaloide und Pterine). Von CLEMENS SCHÖPF.

Kurze Originalmitteilungen.

Über ein hochwirksames Glykosid aus dem Pollen von Crocus. Von RICHARD KUHN, IRMENTRAUT LÖW und FRANZ MOEWUS.

Läßt sich die Acetylen-Bindung enzymatisch hydrieren? Von F. G. FISCHER.

Anwendung der sauren und basischen Aluminiumoxydsäule zur Analyse von Eiweiß-Hydrolysaten. Von THEODOR WIELAND.

Heft 25/26.

Zum enzymatischen Abbau und zur Struktur der Nucleinsäuren. Von F. G. FISCHER.

Synthese des Biliverdins (Uteroverdins) und Bilirubins. Von HANS FISCHER und HANS PLIENINGER.

Adsorptionsanalyse von Gasen und Dämpfen. Von GERHARD HESSE und BENJAMIN TSCHACHOTIN.

Chemische, physikalische und pflanzenphysiologische Untersuchungen über Lumi-auxon. Von FRITZ KÖGL.

Die Rolle der Phosphorsäure bei Dehydrierungsvorgängen und ihre biologische Bedeutung. Von FEODOR LYNEN.

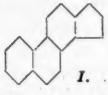
Kurze Originalmitteilung.

Über die Wirkungsweise geschlechtsbestimmender Stoffe. Von RICHARD KUHN, IRMENTRAUT LÖW und FRANZ MOEWUS.

Die Arbeiten H. Wielands auf dem Gebiet der Steroide.

Von ELISABETH DANE, München.

Unter *Steroiden* versteht man eine Gruppe von Naturstoffen, die sich vom Perhydro-cyclopentanophenanthren, dem Steran (I), ableiten. Als Derivate dieses tetracyclischen Ringsystems sind bis jetzt erkannt vor allem die Sterine, die Gallensäuren, die antirachitischen Provitamine, die Sexualhormone, die Nebennierenrindenhormone, die Digitalis-Herzgifte und die Krötengifte. Alle diese biologisch so verschiedenartig wirkenden Stoffe zeigen einen chemisch sehr ähnlichen Aufbau.



I.

Die ersten Forschungsergebnisse auf dem Gebiet der Steroide sind an den Sterinen und Gallensäuren erzielt worden. Etwa ab Ende des vorigen Jahrhunderts finden sich in der Literatur in steigendem Maße Arbeiten, die sich mit der Isolierung und näheren Charakterisierung von Vertretern beider Stoffklassen beschäftigen. In ein entscheidendes Stadium traten aber diese Untersuchungen erst, seit auf dem Gebiet der Sterine WINDAUS ab 1903 und auf dem Gebiet der Gallensäuren WIELAND ab 1912 an die Konstitutionsermittelung dieser Stoffe herangingen. Ihren Abschluß fanden diese Arbeiten 1933 mit der Aufstellung der unten wiedergegebenen Konstitutionsformeln.

Parallel mit den Arbeiten an den Gallensäuren und Sterinen gehen vor allem seit etwa 1930 Untersuchungen an den anderen obengenannten Steroiden, deren Konstitution von mehreren deutschen — es sei nur der Name BUTENANDT erwähnt — und ausländischen Forschungskreisen ermittelt

wurde, wobei das Tempo der erzielten Fortschritte ein geradezu atemberaubendes war. So konnte z. B. 1934 für das Progesteron, eines der weiblichen Hormone, gleichzeitig mit der ersten Charakterisierung eine arbeitshypothetische Konstitutionsformel aufgestellt werden, deren Richtigkeit noch im gleichen Jahr durch Teilsynthese, d. h. durch Abbau von anderen leichter zugänglichen Steroiden, bewiesen wurde[1]). Gemessen an den langwierigen — man darf fast sagen asketischen — Arbeiten an den Gallensäuren und Sterinen, ist das ein überraschend kurzer Zeitraum, vor allem wenn man berücksichtigt, daß von den kostbaren Wirkstoffen nur äußerst geringe Mengen zur Verfügung standen.

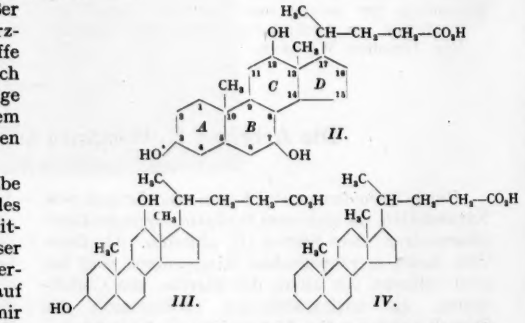
Wenn man aber die Arbeiten, z. B. auf dem Gebiet der Sexualhormone, näher verfolgt hat, so weiß man, daß diese glänzenden Erfolge nur möglich wurden, weil die Grundlagen auf dem Gebiet der Steroide durch die Arbeiten von WIELAND und WINDAUS geschaffen waren. In sicherer Voraussicht dieser künftigen Auswirkungen sagt H. WIELAND 1929 in einem Vortrag über die Konstitution der Gallensäuren anläßlich der Verleihung des Nobelpreises:

„Das Problem erscheint in experimenteller Hinsicht wenig reizvoll. Kein Stickstoff, der der Bearbeitung der Alkaloide Anregung und Mannigfaltigkeit verleiht. Als ein langer, unsäglich ermüdender Marsch durch eine dürre Strukturwüste stellt sich die Aufgabe dar . . . Aber die treibende Kraft, von der die Ausdauer gestählt wird, liegt doch im Problem. Wenn wir die biologischen Zusammenhänge auf dem großen Gebiet chemisch verwandter Naturstoffe übersehen wollen, zu dem außer den Gallensäuren die Sterine, mit großer Wahrscheinlichkeit auch die pflanzlichen Herzgifte aus der Gruppe der Saponine, die Giftstoffe aus dem Hautsekret der Kröte und voraussichtlich auch noch andere wichtige Substanzen, wie einige Vitamine, gehören, dann müssen wir vor allem Klarheit über die Grundlagen ihrer chemischen Struktur gewonnen haben."

Als Privatassistentin von H. WIELAND habe ich in den Jahren 1929—1934 den letzten Teil des „Marsches durch die dürre Strukturwüste" miterlebt, und ich darf wohl sagen, daß mir dieser Marsch eine Freude war. Wenn ich es nun unternehme, einen Bericht über die älteren Arbeiten auf dem Gebiete der Steroide zu geben, so bin ich mir bewußt, daß dieser bei den Kennern der Steroidchemie kaum Interesse finden wird, zumal seit Jahren ausgezeichnete Zusammenfassungen vorliegen. Auch muß ich darauf verzichten, dem Nichtfachmann die trocken anmutenden Gallensäurearbeiten dadurch reizvoller zu machen, daß ich sie in Beziehung zu den aktuellen Arbeiten auf dem Gebiet der Sexualhormone bringe; die Fortschritte in der Chemie dieser Wirkstoffe sind in den letzten Jahren so oft behandelt worden — auch in dieser Zeitschrift in einem Bericht von A. BUTENANDT[2]) bei Gelegenheit des 65. Geburtstages von A. WINDAUS —, daß sich ein neues Eingehen darauf verbietet. Trotzdem will ich versuchen, anläßlich des Geburtstages von H. WIELAND über die nun schon „alten" Steroidarbeiten zu berichten in der Hoffnung, daß vielleicht ein Rückblick auf die Grundlagen dieses jetzt zu voller Blüte entfalteten Forschungsgebietes bei dem breiteren Kreis der Leser der „Naturwissenschaften" Interesse erwecken wird.

Im folgenden soll nun nicht versucht werden, den langen Weg nachzugehen, den die Konstitutionsaufklärung der **Gallensäuren** genommen hat. Es sollen in diesem Bericht vielmehr die wichtigsten *Methoden*, die für den Abbau des Ringsystems herangezogen wurden, im Vordergrund stehen und an einfachen Beispielen erörtert werden. Diese Methoden mußten zum Teil erst neu entwickelt werden. Die meisten waren wohl aus der aliphatischen und der hydroaromatischen Chemie bekannt; sie mußten jedoch ihre Brauchbarkeit für den Abbau eines so komplizierten Ringsystems, für das zu Beginn der Arbeiten noch keine Analogie vorlag, erst erweisen.

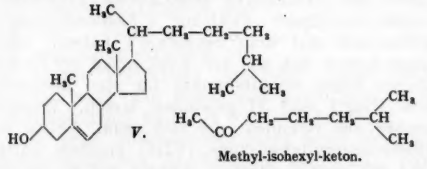
Für die Konstitutionsermittelung der Gallensäuren waren von besonderer Bedeutung zwei aus Rindergalle isolierte Säuren: die *Cholsäure* $C_{24}H_{40}O_5$ (3, 7, 12-Trioxy-cholansäure) und die *Desoxycholsäure* $C_{24}H_{40}O_4$ (3, 12-Dioxy-cholansäure). Beide Säuren enthalten die nicht in der Carboxylgruppe gebundenen Sauerstoffatome als alkoholische Hydroxylgruppen. Sie sind gesättigt und müssen also auf Grund ihrer analytischen Zusammensetzung 4 Ringe enthalten. Ihre Strukturbilder seien durch die Formeln II und III vorweggenommen.



Schon in einer der ersten Mitteilungen über die Gallensäuren konnte WIELAND[3]) zeigen, daß die Cholsäure und die Desoxycholsäure das *gleiche Kohlenstoffgerüst* enthalten. Die beiden Oxysäuren ließen sich durch Destillation unter Abspaltung von Wasser in die entsprechenden ungesättigten Säuren überführen, die dann bei der katalytischen Hydrierung die gleiche gesättigte Säure, die *Cholansäure* $C_{24}H_{40}O_2$ (IV) ergaben. Die Zurückführung der Oxysäuren auf eine gemeinsame Stammsäure bedeutete für die weitere Konstitutionsermittelung eine wesentliche Erleicherung,

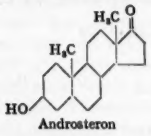
konnten doch jetzt die beim Abbau der einfacher zusammengesetzten Desoxy-cholsäure gewonnenen Erkenntnisse auch auf die Cholsäure übertragen werden. Umgekehrt bot die Cholsäure bei Oxydationen Angriffsmöglichkeiten, die die bei der Desoxycholsäure gegebenen aufs beste ergänzen. Später konnte auch für eine Reihe weiterer Gallensäuren, die z. B. aus Gänse- bzw. Menschengalle[4]) oder Schweinegalle[5]) isoliert wurden, die Beziehung zur Cholansäure hergestellt werden. Diese Säuren unterscheiden sich von der Desoxycholsäure nur durch die Stellung der Hydroxylgruppen.

Von besonderer Wichtigkeit war es aber, daß auch die *Sterine* in Zusammenhang zu den Gallensäuren gebracht werden konnten. Eine nahe Verwandtschaft dieser beiden Gruppen von Naturstoffen war wohl schon lange vermutet worden. Allerdings gründete sich diese Vermutung im wesentlichen auf Farbreaktionen, deren Chemismus unbekannt war. Den exakten Beweis konnte WINDAUS 1919 erbringen[6]). Wegweisend für WINDAUS war die Beobachtung, daß das wichtigste tierische Sterin, das *Cholesterin* $C_{27}H_{46}O$ (V), bei der Behandlung mit Chromsäure als flüchtiges Oxydationsprodukt Aceton lieferte, während bei keiner der untersuchten Gallensäuren das gleiche Spaltstück beobachtet werden konnte. Es war naheliegend anzunehmen, daß bei dieser Oxydation die 3 Kohlenstoffatome abgespalten würden, die das Sterin mehr als die Gallensäuren enthält. Tatsächlich gelang es WINDAUS, das Cholesterin nach Entfernung der Hydroxylgruppe und Hydrierung der Doppelbindung mit Chromsäure zu Cholansäure $C_{24}H_{40}O_2$ (IV) und Aceton abzubauen.



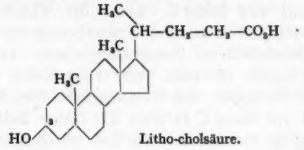
V. Methyl-isohexyl-keton.

Natürlich entsteht bei dieser Oxydation die Cholansäure nur in geringer Menge, denn bei der energischen Behandlung mit Chromsäure werden auch andere, insbesondere tertiäre Kohlenstoffatome angegriffen. Man muß also ein Gemisch von kleineren Bruchstücken erwarten. Ein Abbauprodukt, das seine Entstehung dem Angriff der Chromsäure an C_{17} verdankt, war schon einige Jahre früher von WINDAUS isoliert worden[7]). 1913 hatte WINDAUS als flüchtigen Bestandteil der Oxydationsprodukte das Methyl-isohexylketon erhalten, ein Befund, der 20 Jahre später von RUZICKA[8]) aufgegriffen wurde und der ihn ermutigte, das nach Abspaltung der Seitenkette zu erwartende Keton mit 19 Kohlenstoffatomen zu suchen. Die Anwendung der Chromsäureoxydation auf geeignet umgeformte Sterine führte RUZICKA auf Stoffe, die mit den männlichen Sexualhormonen identisch oder nah verwandt waren. Es sei nur an die Formel des *Androsterons* erinnert, das so durch Teilsynthese leicht zugänglich wurde.



Androsteron

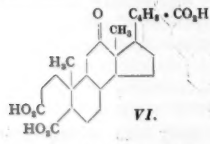
Die weitere Untersuchung des Ringgerüstes der Cholansäure erfolgte nicht ausgehend von dieser Stammsäure, die ja dem Abbau keine Angriffspunkte bietet. Das geeignete Ausgangsmaterial fand sich in den Oxysäuren, wobei von besonderem Vorteil war, daß die Sauerstoffatome sich in den Gallensäuren auf 3 Ringe verteilen und daß sie eine verschieden große, ja wie später gefunden wurde, eine sehr *fein abgestufte Reaktionsfähigkeit* zeigen. Der Sauerstoff im Ring A an C_3 ist der Oxydation bzw. Reduktion oder Veresterung besonders leicht zugänglich; am schwersten tritt der durch die Methylgruppe sterisch abgeschirmte Sauerstoff an C_{12} in Reaktion. Durch partielle Oxydation, Reduktion oder Wasserabspaltung wurden daher die verschiedenen Dioxy- und Monooxy-cholansäuren zugänglich. So wurde z. B. die *Lithocholsäure*, die bis dahin nur in sehr geringer Menge aus natürlichen Ausgangsmaterialien isoliert worden war, aus Desoxycholsäure leicht darstellbar[9]). Desoxycholsäure wurde partiell acetyliert und zur 3-Acetoxy-12-ketocholansäure oxydiert, in der dann nach KISHNER-WOLFF die Carbonylgruppe reduziert werden konnte. Auch ließ sich die Desoxycholsäure, nach Überführung in die 3,12-Diketosäure, durch milde Reduktion nach CLEMMENSEN (Verwendung von nicht amalgamiertem Zink) in eine Monoketosäure, die *12-Ketocholansäure*, überführen, die nur noch im Ring C Sauerstoff trägt[10]). Auf einem ähnlichen, etwas umständlicheren Weg ließ sich auch die *7-Ketocholansäure* erhalten[11]). Gerade diese Mono-oxy- und -ketocholansäuren sind in einem späteren Zeitpunkt der Untersuchungen, als es notwendig wurde jeden einzelnen Ring getrennt zu untersuchen, ein willkommenes Ausgangsmaterial geworden.



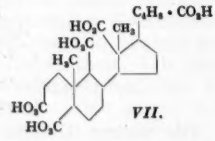
Litho-cholsäure.

Zunächst galt es die *Stellung der Sauerstoffatome* näher festzulegen. Die ersten Ergebnisse wurden mit Hilfe der *oxydativen Ringsprengung* an der *Desoxycholsäure* gewonnen[12]). Durch Oxydation dieser Dioxysäure mit Salpetersäure wurde eine Ketotricarbonsäure $C_{24}H_{36}O_7$ erhalten. Da diese Säure noch die gleiche Anzahl von C-Atomen wie die Desoxycholsäure enthielt, so konnte sie nur durch Öffnung eines Ringes, und zwar benachbart einer ringständigen Hydroxylgruppe,

entstanden sein. Der Ketotricarbonsäure, der sog. *Desoxy-biliansäure*, kommt nach unserer jetzigen Formulierung die Struktur VI zu.



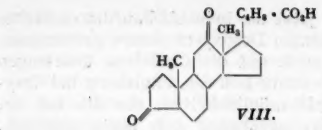
VI.



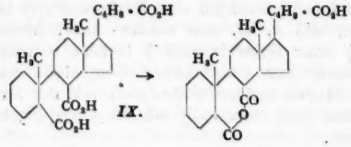
VII.

Bei weiterer kräftiger Oxydation wurde auch die CO-Gruppe der Desoxy-biliansäure angegriffen. Es wurde wiederum eine Säure mit 24 Kohlenstoffatomen erhalten, eine recht stabile Pentacarbonsäure $C_{24}H_{36}O_{10}$, die *Choloidansäure* (VII)[13]), deren Entstehung nur verständlich war, wenn die ursprünglich in der Desoxy-cholsäure vorhandenen Sauerstoffatome genügend weit entfernt standen, um sich gegenseitig nicht zu stören, also zwei verschiedenen Ringen angehörten. Für die Trioxycholansäure, die *Cholsäure* (IV), konnte durch einen ähnlichen Abbau[14]) gezeigt werden, daß sich die 3 Hydroxyle auf 3 Ringe verteilen und daß sich neben jeder sekundären alkoholischen Hydroxylgruppe eine CH_2-Gruppe befindet.

Über die Art und *Größe der einzelnen Ringe* und über ihre Stellung zueinander ließ sich auf Grund der oxydativen Ringsprengungen keine Aussage machen. Die wichtigste Methode für die weitere Untersuchung der Polycarbonsäuren wurde die *thermische Zersetzung*. Diese Reaktion erlaubt eine Aussage über die Ringgröße nach einer von BLANC aufgestellten Regel. Danach sollten 1,6- und 1,7-Dicarbonsäuren bei der Destillation fünf- bis sechsgliedrige Ringketone ergeben; 1,5-Dicarbonsäuren, also Glutarsäurederivate, sollten dagegen Anhydride liefern. Diese Regel stimmt, wenn man sie auf Ring A anwendet; die Desoxybiliansäure (VI), die durch Öffnung dieses Ringes aus Desoxy-cholsäure entstanden war, geht bei der trockenen Destillation unter Verlust von Kohlendioxyd und Wasser in eine Diketosäure $C_{23}H_{34}O_4$, die Brenz-desoxybiliansäure (VIII), über[12]), so wie die oben wiedergegebene Strukturformel erwarten läßt. Die BLANCsche Regel versagt aber bei Anwendung auf Ring C, denn die durch Öffnung dieses Ringes erhaltene Tricarbonsäure ergab bei der thermischen Zersetzung ein Anhydrid[11]). Leider waren bis zum Jahr 1932 keine Analogien für ein Versagen der BLANCschen Regel bekannt, so daß der Ring C (früher II) lange Zeit als fünfgliedrig angenommen werden mußte. Diese Ansicht hat die endgültige Aufklärung der Gallensäuren lange hinausgezögert. Sie wurde erst als Irrtum erkannt, als es gelang, auch die Tricarbonsäure herzustellen, in der nur Ring B geöffnet war[11]). Da diese sog. *Thilobiliansäure* (IX), die aus anderen Gründen mit Sicherheit eine 1,6-Dicarbonsäure sein mußte, bei der Brenzreaktion ebenfalls ein Anhydrid lieferte, wurde gleichzeitig auch der Beweis für die Fünfgliedrigkeit des Ringes C hinfällig.

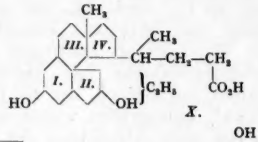


VIII.

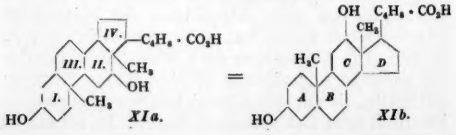


IX.

Allerdings genügte es nicht, den bisher als fünfgliedrig angenommenen Ring einfach um ein Kohlenstoffatom zu erweitern. Der Irrtum, den das Versagen der BLANCschen *Regel* verursacht hatte, war viel tiefgreifender. Er betraf auch die Verknüpfung der Ringe untereinander und hatte zur Aufstellung einer Strukturformel geführt, die in wesentlichen Punkten von der jetzigen abwich. Es ist vielleicht lehrreich, etwas näher darauf einzugehen, zumal da der Vergleich der verschiedenen Formulierungen ein wenig zum Verständnis der älteren Arbeiten beitragen wird. Die erste Desoxycholsäureformel (X) unterscheidet sich von der jetzigen vor allem dadurch, daß früher mit dem Sechsring I 2 Ringe verbunden waren. Da nämlich auch im Cholesterin mit Hilfe der BLANCschen Regel scheinbar ein Fünfring aufgefunden worden war[16]), so mußte man annehmen, daß dieser „Fünfring" identisch sei mit dem der Gallensäuren, also dem Ring II, der in der Desoxybiliansäure die CO-Gruppe trägt. Nach eindeutigen, am Cholesterin gewonnenen Ergebnissen mußte nun dieser „Fünfring" 2 Kohlenstoffatome gemeinsam mit dem Sechsring I haben. Allerdings hatten sich aus den Reaktionen der Gallensäuren keine Anhaltspunkte für eine Beziehung von Ring I und II gewinnen lassen. Dagegen mußte aus Gründen, die sich beim Abbau der Brenz-desoxy-biliansäure (VIII) ergeben hatten und die später erörtert werden sollen, in den Gallensäuren mit dem Ring I ein anderer Ring über 2 Kohlenstoffatome verbunden sein, und zwar gerade der Ring, der in der Desoxy-biliansäure (VI) sauerstofffrei ist. Man war also gezwungen, den Sechsring I gleichzeitig mit 2 Ringen zu verknüpfen, und kam für die Desoxy-cholsäure zur Formel X.



X.

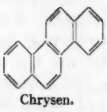


XIa. *XIb.*

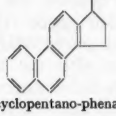
Erst der Befund an der *Thilobiliansäure* (IX) machte den Weg frei für die Aufstellung einer neuen Gallensäureformulierung. Mit der Feststellung, daß sich die durch Öffnung von Ring II und Ring III erhaltenen Tricarbonsäuren bei der Brenzreaktion ganz gleichartig verhielten, wurde nämlich auch der Beweis für die Identität von Ring II der Gallensäuren mit dem Ring II der Sterine hinfällig. Dieser Ring II der Sterine konnte jetzt ebensogut mit dem schon lange als Sechsring erkannten Ring III der Gallensäuren identisch sein. Es brauchte daher der Ring I nicht mehr mit 2 Ringen verbunden werden, und der alte Ring II der Gallensäuren konnte als Sechsring zwischen Ring III und IV eingeschoben werden, wie das Strukturbild XIa zeigt, das in einer etwas ungewohnten Schreibweise die Struktur der Desoxycholsäure (XIb) wiedergibt.

Die erste Anregung für die Abänderung der alten Formel geht übrigens auf ROSENHEIM zurück, den röntgenologische Untersuchungen dazu veranlaßt hatten[17]). Als merkwürdiger Zufall mag hier erwähnt werden, daß am gleichen Tag, an dem der überraschende Befund an der Thilobiliansäure nach 20jähriger Forschung die Aufstellung der neuen Strukturformel geradezu erzwang, ein Brief ROSENHEIMS in München eintraf, der seinen ersten, in einigen Punkten später abgeänderten Vorschlag enthielt. Der Beweis für die neue Konstitutionsformel war schon fast lückenlos in den bis zum Jahr 1932 erschienenen 38 Gallensäurearbeiten H. WIELANDS enthalten. Es ist — glaube ich — gerade für den Steroidchemiker reizvoll zu sehen, wie die Ergebnisse dieseArbeiten, mosaikartig zusammengefügt, sich folgerichtig ergänzen und ein klares Formelbild ergeben. Auch rückblickend muß man sagen, daß kaum eine dieser Untersuchungen entbehrt werden könnte.

Die neue Steroidformel steht auch in Übereinstimmung mit Ergebnissen, die DIELS 1925 durch *Dehydrierung* von Gallensäuren und Sterinen mit Selen erhalten hatte[18]). Damals hatte DIELS durch Erhitzen dieser Stoffe mit Selen 2 Kohlenwasserstoffe erhalten; je nach den Versuchsbedingungen war *Chrysen* entstanden oder ein Kohlenwasserstoff $C_{18}H_{16}$, der allerdings erst 1934 als *γ-Methyl-cyclopentano-phenanthren* erkannt wurde[19]). Beide Kohlenwasserstoffe sind durch



Chrysen.

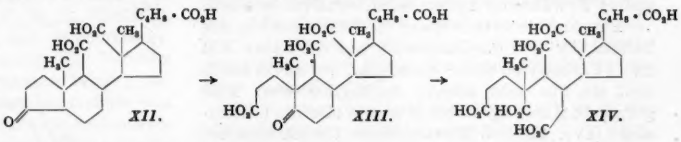


γ-Methyl-cyclopentano-phenanthren.

geringfügige Umformungen des tetracyclischen Ringsystems entstanden. Ihre Bildung bei der Selendehydrierung wird heute — und darin liegt der Wert der Methode — als erste Orientierung und als Kriterium für das Vorliegen von Steroiden herangezogen. Für die Konstitutionsermittelung aber konnte die Dehydrierungsreaktion in einem früheren Zeitpunkt der Untersuchungen leider nicht verwandt werden, da man keine Erfahrung über den Verlauf der Dehydrierung von komplizierten Ringsystemen besaß und da man unter den sehr energischen Versuchsbedingungen mit tiefgreifenden Umlagerungen rechnen mußte.

Die alleinige Methode, die zu einem in allen Einzelheiten gesicherten Strukturbild führen konnte, war und blieb der systematische Abbau des Ringsystems. Als Ausgangsmaterial, das eine Aufrollung des Moleküls ermöglichte, wurden vor allem Ketosäuren herangezogen, da für den Abbau von Polycarbonsäuren auch jetzt noch keine brauchbaren Methoden zur Verfügung stehen. Insbesondere Ketosäuren, in denen der Ring A zum fünfgliedrigen Ketoring verengt war, erwiesen sich als geeignet und wurden zunächst untersucht. Durch ihren Abbau konnte die *Verknüpfung von Ring A und Ring B* bewiesen werden. Es sei hier nur der *Abbau der Brenzcholoidansäure*[20]) herausgegriffen.

Die Choloidansäure $C_{24}H_{36}O_{10}$ (VII) ergab bei der Brenzreaktion eine Ketosäure, in der Ring A zum Fünfring verengt war und in der die beiden durch Öffnung von Ring C entstandenen Carboxyle ein Anhydrid gebildet hatten. Durch Aufspaltung dieser Anhydridbindung wurde die Ketotricarbonsäure $C_{23}H_{34}O_7$ (XII) erhalten. Sie wurde von

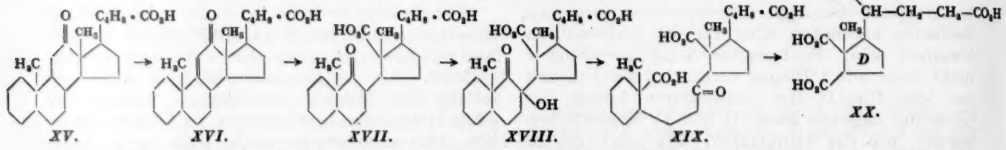


XII. *XIII.* *XIV.*

Kaliumpermanganat wie alle ihr verwandten Säuren an dem der CO-Gruppe benachbarten tertiären Kohlenstoffatom angegriffen und zur Keto-tetracarbonsäure $C_{23}H_{34}O_9$ (XIII) oxydiert. Diese lieferte bei weiterer Oxydation mit Salpetersäure unter Ringöffnung eine Hexacarbonsäure der gleichen Kohlenstoffanzahl, die *Solannellsäure* $C_{23}H_{34}O_{12}$ (XIV), die ihren Namen erhielt, weil in dieser Säure nur noch ein Ring geschlossen war. Der Abbau ließ also erkennen, daß mit dem Ring A ein Ring verbunden sein mußte, der mit ihm 2 Kohlenstoffatome gemeinsam hatte, von denen eines tertiär war.

In einem späteren Zeitpunkt, als es galt, bisher nicht erreichte Bezirke des Moleküls vorsichtig abzutasten, führten die üblichen energischen Oxydationen nicht mehr zum Ziel. Für besondere Fälle wurde jetzt die Methode der *Bromierung* herangezogen. Ihre Zweckmäßigkeit sei am Beispiel der 12-Ketocholansäure (XV)[21]) dargetan. Durch diesen Abbau erstrebte man einen scharfen Beweis für die in der neuen Formel angenommene Verknüpfung yon Ring C mit Ring B und D. Die bisher benutzten Oxydationsmittel führten hier nicht weiter, da

sie den Ring C zu einer Tricarbonsäure öffneten, von der aus durch Brenzreaktion nicht das für einen weiteren Abbau erforderliche Keton erhalten werden konnte; wie schon erwähnt, entstand nur das Anhydrid. Beim Bromabbau dagegen konnte stufenweise, wie die Formeln XV bis XX veranschaulichen, die zwischen Ring C und B vorhandene Bindung gelöst werden:

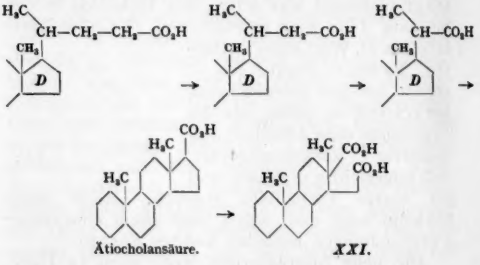


XV. XVI. XVII. XVIII. XIX. XX.

Die durch partielle Reduktion von Dehydrodesoxycholsäure erhaltene *12-Keto-cholansäure* ergab bei der Behandlung mit Brom die 11-Brom-12-keto-cholansäure. Abspaltung von Bromwasserstoff führte zur ungesättigten Säure XVI, die dann, so wie es die Formel voraussehen ließ, zur Keto-dicarbonsäure XVII oxydiert werden konnte. Durch Bromierung dieser Ketodicarbonsäure XVII, Verseifung zur Oxy-ketodicarbonsäure XVIII und anschließende Oxydation mit Chromsäure in der Kälte kam man erwartungsgemäß zur Ketotricarbonsäure XIX, die mit stärkeren Oxydationsmitteln die Tricarbonsäure $C_{13}H_{20}O_6$ (XX) lieferte. Dieses kleinste Abbauprodukt der Gallensäuren war schon früher auf einem anderen Weg[32]), der später Erwähnung finden wird, erhalten worden.

Für den weiteren Abbau, die Untersuchung der Seitenkette und des Ringes D, war die Säure XX mit 3 Carboxylen nicht brauchbar, vor allem auch, weil sie nur sehr schwer zugänglich war. Das geeignete Ausgangsmaterial wurde hier die *Cholansäure* (IV). Sie ließ übersichtliche Verhältnisse erwarten, da der Angriff nur von der Carboxylgruppe her erfolgen konnte. Zwar durfte man von dem Abbau der Seitenkette kaum Überraschungen in bezug auf ihre Struktur erwarten, da diese von WINDAUS durch die bereits erwähnte Isolierung des Methyl-isohexyl-ketons[7]) aus den Oxydationsprodukten des Cholesterins (V) schon festgelegt worden war. Dagegen konnte man hoffen, die Frage nach der *Haftstelle der Seitenkette* und nach der *Natur des Ringes D* durch einen systematischen Abbau der Seitenkette zu lösen.

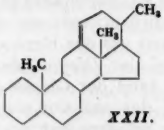
Für den Abbau von Carbonsäuren waren einige Methoden bekannt; sie versagten aber bei Übertragung auf die Cholansäure aus Gründen, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann. WIELAND und Mitarbeiter[33]) waren daher gezwungen, eine neue Abbaumethode auszuarbeiten. Sie setzten Cholansäure-ester nach GRIGNARD zum tertären Carbinol um, das sich mit Chromsäure in guter Ausbeute zur nächstniederen Säure, der Norcholansäure $C_{23}H_{38}O_2$, oxydieren ließ. Wiederholung der Operationen führte zur Nor-norcholansäure mit 22 Kohlenstoffatomen. Bei nochmaliger Anwendung der Abbaumethode aber wurde, in Bestätigung des angenommenen Strukturbildes, unter Verlust der Methylgruppe eine Säure mit 20 Kohlenstoffatomen erhalten, die *Ätiocholansäure*. Die Oxydation des aus dieser Säure erhaltenen Carbinols machte nicht bei dem zu erwartenden Ringketon halt; es wurde hauptsächlich eine Dicarbonsäure mit 19 Kohlenstoffatomen, die *Ätiobiliansäure* XXI, erhalten, in der Ring D erstmalig geöffnet war. Die Isolierung dieser Säure war es, die vor allem den mühevollen Abbau der Seitenkette lohnte. Ihre Entstehung aus der Ätiocholansäure unter Verlust von nur einem Kohlenstoffatom zeigte zunächst einmal, daß die Seitenkette an einem sekundären Kohlenstoffatom haftete und daß sich neben diesem Kohlenstoffatom eine CH_2-Gruppe befinden mußte. Bei der Brenzreaktion lieferte die Ätiobiliansäure XXI ein Anhydrid. Ring D mußte also ein Fünfring sein, da ein Versagen der BLANCschen Regel bei dem, wie Ring A ganz frei liegenden Ring D, nicht zu erwarten war.



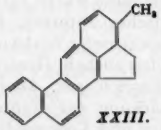
Ätiocholansäure. XXI.

Die genaue Haftstelle der Seitenkette am Ring D ergab sich aus einer etwas späteren Arbeit WIELANDS[34]). Durch Destillation der 12-Ketocholansäure war unter Verlust von Kohlendioxyd und Wasser ein Kohlenwasserstoff $C_{23}H_{36}$ erhalten worden. Seine Entstehung verdankt dieses sog. *Dehydro-norcholen* (XXII) einer Kondensation der CO-Gruppe mit der zur Carboxylgruppe α-ständigen CH_2-Gruppe. Diese Reaktion war allerdings nur möglich, wenn sich die Seitenkette in einer Stellung befand, die für den neugebildeten Ring keine allzu große Spannung ergab. Am Modell sieht man leicht, daß diese Forderung nur erfüllt ist, wenn sich die Seitenkette an C_{17} befindet. Als letzte Sicherung wurde das Dehydro-norcholen auch noch der Dehydrierung mit Selen unterworfen[35]). Es entstand in guter Ausbeute, da in diesem Falle keine Umlagerungen stattfanden, ein gelber Kohlenwasserstoff $C_{21}H_{16}$, das *Methylcholanthren* (XXIII), wiederum ein Beweis dafür, daß der neu-

gebildete Ring ein Sechsring war. Wenn jetzt überhaupt noch ein Zweifel am Aufbau des Ringsystems bestanden hätte, so wäre dieser inzwischen durch die auf mehreren Wegen durchgeführte vollständige Synthese des Methylcholanthrens[20]) behoben.



XXII.

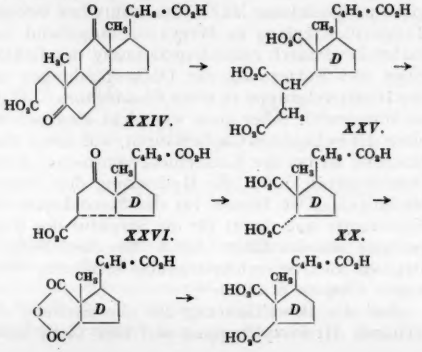


XXIII.

Das Methyl-cholanthren ist übrigens noch aus einem anderen Grunde interessant geworden. Es ist der am stärksten Krebs erregende Kohlenwasserstoff, den man kennt, und es hat daher Anlaß zur Synthese einer großen Zahl ähnlich gebauter Kohlenwasserstoffe gegeben.

Bisher ist die *Stellung der Methylgruppen* noch nicht diskutiert worden. Für ihre Haftstelle ließen sich eine ganze Reihe von experimentellen Gründen anführen. Hier seien nur einige der Tatsachen erwähnt, die der Gallensäure-Chemie entnommen sind. Zunächst einmal bleiben — wenn man alle Abbaureaktionen in Betracht zieht — keine anderen Haftstellen übrig als C_{10} und C_{13} bzw. C_{14}. Alle anderen Kohlenstoffatome wurden von den verschiedenen Abbauwegen erfaßt, ohne daß man die Methylgruppen angetroffen hätte.

Für die Stellung der Methylgruppe am Ring D, und zwar an C_{13} bzw. C_{14}, sprach vor allem das Verhalten der *Tricarbonsäure* $C_{13}H_{20}O_6$ (XX)[21b]), die zuerst, ausgehend von der Brenzdesoxybiliansäure (VIII) auf dem, durch die Formeln XXIV bis XXVI gekennzeichneten Weg[22]), erhalten worden war: Brenz-desoxy-biliansäure war analog wie die obenerwähnte Brenz-choloidansäure (vgl. Formel XII und XIII) mit Kaliumpermanganat zur Diketo-dicarbonsäure (XXIV) oxydiert worden. Diese ließ sich durch energische Oxydation zu einer Tetracarbonsäure mit nur 16 Kohlenstoffatomen (XXV) abbauen. Durch Brenzreaktion wurde eine Keto-dicarbonsäure $C_{15}H_{22}O_5$ (XXVI) erhalten, die bei weiterer Oxydation die Tricarbonsäure XX lieferte.



XXIV. *XXV.* *XXVI.* *XX.*

Die Carboxylgruppen dieser Tricarbonsäure $C_{13}H_{20}O_6$ zeigten nun eine sehr verschiedenartige Reaktionsfähigkeit; eine davon war auffallend schwer veresterbar, was erklärlich wurde, wenn sie durch einen Substituenten abgeschirmt war. Als solcher kam nur eine Methylgruppe in Frage, da 12 Kohlenstoffatome schon durch die Seitenkette, den Fünfring und die beiden weiteren Carboxylgruppen vergeben waren. Zugunsten von C_{13} als Haftstelle für diese Methylgruppe ließ sich durch folgende Überlegung entscheiden[21b]): Die Tricarbonsäure $C_{13}H_{20}O_6$ lieferte bei der Brenzreaktion ein Anhydrid, das durch Hydrolyse zu einer Tricarbonsäure aufgespalten wurde, die mit der Ausgangssäure isomer war. Es mußte also bei der Schließung des fünfgliedrigen Anhydridringes eine Umlagerung, und zwar den Forderungen der Spannungstheorie entsprechend, von der trans-Form zur fast *spannungsfreien cis-Verbindung* stattgefunden haben.

Nun war aber die Tricarbonsäure XX über die Brenzsäure XXVI erhalten worden, die ebenso wie das Anhydrid der Säure XX zwei miteinander verknüpfte Fünfringe enthielt. Man hätte also die Umlagerung in die cis-Reihe, die beim Erhitzen der Tricarbonsäure XX beobachtet wurde, schon beim Übergang der Säure XXV zur Ketosäure XXVI erwarten sollen. Offenbar hatte aber bei der Bildung der Säure XXVI keine Isomerisierung stattgefunden, denn die aus der Ketosäure XXVI erhaltene Tricarbonsäure XX war ja identisch mit der über die Zwischenstufen XV bis XX dargestellten Tricarbonsäure $C_{13}H_{20}O_6$. Die bei diesem Abbauweg angewandten Reaktionsbedingungen boten aber keine Möglichkeit zu einer Isomerisierung.

Die Umlagerung fand erst dann statt, wenn die Vorbedingungen dafür gegeben waren, d. h. wenn — so wie in der Tricarbonsäure XX — beweglicher Wasserstoff in α-Stellung zu einer der ringständigen Carboxylgruppen vorhanden war. Würde man nun die Methylgruppe an C_{14} annehmen, so enthielte schon die Säure XXV am Ring D die zur Umlagerung befähigte Gruppierung $>CH-CO_2H$. Nur bei Verlegung der Methylgruppe an C_{13} fehlt der Säure XXV die Fähigkeit zur Umlagerung.

Die Beobachtungen an der Tricarbonsäure XX enthielten gleichzeitig den Beweis für die *sterische Verknüpfung der Ringe C und D*. Nach dem oben Gesagten war die Säure XX ein Derivat der Cyclopentan-trans-1,2-dicarbonsäure. Da sie nun auf einem Weg erhalten worden war, der Umlagerungen ausschloß, so mußten auch in den natürlichen Gallensäuren die Ringe C und D in trans-Stellung miteinander verbunden sein. — Auch die Stellung der Ringe A und B zueinander war schon in früheren Arbeiten[27]), auf die hier nicht näher eingegangen werden kann, geklärt worden; man hatte diesen Teil des Moleküls als Derivat des cis-Dekalins erkannt.

Als Abschluß des Berichtes über die Strukturermittelung der Gallensäuren soll noch eine wich-

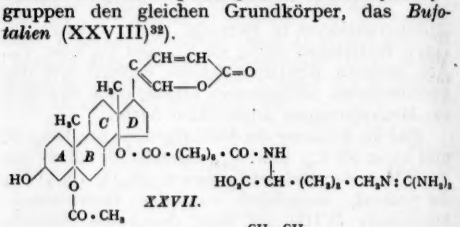
tige Arbeit H. WIELANDS Erwähnung finden, die sich mit der biologischen Bedeutung dieser Säuren befaßt. Schon 1916 hatten WIELAND und SORGE gefunden, daß die Natriumsalze der beiden am meisten verbreiteten Gallensäuren, das der Cholsäure und besonders das der Desoxycholsäure, die Eigenschaft haben, eine Reihe von wasserunlöslichen Stoffen, wie z. B. Fettsäuren, Fette, Naphthalin, Cholesterin, Strychnin und Campher in wäßrige Lösung zu bringen. Die Gallensäuren — und in noch größerem Maß ihre Salze — bilden mit diesen Stoffen wohldefinierte wasserlösliche Anlagerungsverbindungen, die *Choleinsäuren*. Dieses sog. Choleinsäureprinzip erklärt nach H. WIELAND „ganz allgemein die Resorption von in Wasser unlöslichen Stoffen. Die Galle hat damit die wichtige Funktion, Substanzen, die durch Verdauung nicht zur Lösung kommen, durch die Darmwand hindurch zu transponieren". Erwähnt sei auch das *Cadechol*, eine wasserlösliche Anlagerungsverbindung von Campher an Natrium-desoxycholat, in der das Choleinsäureprinzip therapeutische Anwendung findet.

Auch auf das Gebiet der Sterine führen einige Untersuchungen WIELANDS. Sie beschäftigen sich mit den **Nebensterinen der Hefe**, die aus der technisch anfallenden Mutterlauge des Ergosterins isoliert wurden. Das Ziel dieser seit 1929 begonnenen Arbeiten[28]) ist, durch Isolierung und Charakterisierung möglichst vieler verschiedener Sterine einen Einblick in den *Sterinstoffwechsel* der Hefezelle zu bekommen. Bisher ist es allerdings noch nicht gelungen, Stoffe aufzufinden, die man als Zwischenprodukte des Aufbaus oder des Abbaus von Sterinen ansprechen könnte. Es wurden hauptsächlich Sterine isoliert, die 27 bzw. 28 Kohlenstoffatome enthielten und deren Struktur sich vom Cholesterin bzw. Ergosterin nur durch die Zahl und Lage der Doppelbindungen unterschied[29]). Auf die Wiedergabe der Konstitutionsformeln und auf die Beweisführung soll verzichtet werden, da die Methodik der Untersuchung der bei den übrigen Steroiden angewandten sehr ähnlich ist.

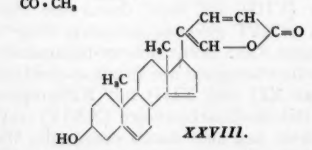
Fast gleichzeitig mit den Gallensäuren hat H. WIELAND die Untersuchung der ebenfalls in die Gruppe der Steroide gehörenden *tierischen Herzgifte*, der **Krötengifte**, in Angriff genommen[30]). Allerdings haben diese Arbeiten als Folge der schwierigen Materialbeschaffung einen längeren Zeitraum beansprucht, mußten doch zur Gewinnung von etwa 20 g des wichtigsten Giftstoffes bei jeder „Krötenjagd" 20000 Kröten „gemolken" werden; so bezeichnet man das Ausdrücken der am Hinterkopf liegenden Giftdrüsen. Dafür hatten aber die Arbeiten auf dem Gebiet der Krötengifte den großen Vorteil, daß man hier auf die inzwischen an den Gallensäuren ausgearbeiteten Methoden zurückgreifen konnte, so daß die Untersuchungen über die Struktur der hier zu besprechenden recht kompliziert gebauten Giftstoffe in nur 7 Mitteilungen niedergelegt sind.

Aus den Hautsekreten der verschiedenen Krötenarten ist eine große Zahl von Giftstoffen isoliert worden; hier sollen nur die hauptsächlich von H. WIELAND untersuchten aus *Bufo vulgaris*, der gemeinen Erdkröte, Erwähnung finden und von diesen nur die aus der Gruppe der Steroide. Gerade diese waren es, die ein besonderes pharmakologisches Interesse beanspruchten; sie zeigten eine spezifische Wirksamkeit auf das Herz, die der der pflanzlichen Herzgifte, der *Digitalisglukoside*, sehr ähnlich war. Damit fand der Glaube an die Heilwirkung der Kröten, der sich von alters her in Sage und Volksmedizin erhalten hat, wie vieles andere instinktmäßig Gefundene, seine Rechtfertigung durch exakte wissenschaftliche Untersuchungen.

Die wichtigsten aus Bufo vulgaris isolierten Herzgifte sind das als Genin bezeichnete *Bufotalin* und das *Bufotoxin*. Der beste Ausdruck für die Struktur des Toxins ist durch die Formel XXVII wiedergegeben[31]); es ist der Suberyl-arginin-ester des Genins. Der Beweis wurde durch Hydrolyse erbracht; beim Erhitzen mit Säuren ergaben Toxin und Genin unter Abspaltung der tertiären Hydroxylgruppen den gleichen Grundkörper, das *Bufotalien* (XXVIII)[32]).



XXVII.



XXVIII.

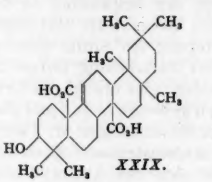
Die analytische Zusammensetzung und gewisse Farbreaktionen des Genins und seiner Derivate machten es wahrscheinlich, daß auch hier eine den Gallensäuren nah verwandte Stoffgruppe vorliege. Es war daher wichtig, auch die Krötengifte in Beziehung zur Cholansäure zu bringen. Tatsächlich gelang es WIELAND, ausgehend vom Bufotalien, durch reduktive Öffnung des Laktonrings und Entfernung der Doppelbindungen und der Hydroxylgruppe zu einer *Cholansäure* $C_{24}H_{40}O_2$ zu kommen[33]). Aber diese war nicht identisch mit einer der bekannten Cholansäuren, was nicht überraschend ist bei der Entstehung von neuen Asymmetriezentren durch die Hydrierung der Doppelbindungen. Der Beweis für die Steroidnatur der Krötengifte und damit für die Struktur des Ringgerüstes wurde daher durch die obenerwähnte Methode der Selendehydrierung erbracht; dabei wurde *Chrysen* erhalten[34]).

Auf die Beweisführung für die Stellung der tertiären Hydroxylgruppen soll hier nicht näher

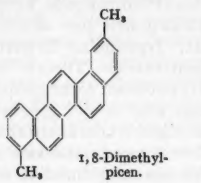
eingegangen werden. Sie ergab sich aus dem Vergleich der durch Wasserabspaltung erhaltenen ungesättigten Säuren mit den Eigenschaften von Doppelbindungen anderer Steroide, deren Lage bekannt war. — Die Stellung der *sekundären* Hydroxylgruppe, die in Analogie zu anderen Steroiden schon immer im Ring A vermutet worden war, konnte vor kurzem mit Hilfe der Methode der oxydativen Ringsprengung und der Brenzreaktion festgelegt werden. Es gelang WIELAND[21], im Bufotalien nach Hydrierung der Doppelbindungen den hydroxylhaltigen Ring oxydativ zu öffnen. Die erhaltene Lakton-dicarbonsäure ergab bei der Brenzreaktion ein Ketolakton und zeigte damit ein Verhalten, wie es nur die durch Öffnung von Ring A entstandenen Oxydationsprodukte der Gallensäuren aufweisen.

Von den Gallensäuren unterscheiden sich die Krötengifte vor allem durch die Struktur der Seitenkette. Charakteristisch ist für letztere ein *ungesättigter δ-Laktonring*, dessen enolisierte Aldehydgruppe sich durch die reduzierenden Eigenschaften und dessen Doppelbindungen sich durch katalytische Hydrierung nachweisen ließen[34]). Vor allem dokumentiert sich das konjugierte System von Doppelbindungen in der Seitenkette auch im Absorptionsspektrum des Genins und seiner Derivate[35]). Der ungesättigte Laktonring — im Fall der pflanzlichen Herzgifte ist es ein ungesättigter γ-Laktonring — ist auch Vorbedingung für die Herzwirksamkeit der Giftstoffe; nach seiner Reduktion oder Öffnung verschwindet jede Wirksamkeit auf das Herz.

Zum Schluß soll noch die **Chinovasäure** Erwähnung finden, die zwar nicht in die Gruppe der Steroide gehört, deren Abbau aber als Derivat eines perhydrierten Ringsystems ähnliche Methoden erforderte wie die oben besprochenen. Die Chinovasäure wurde aus den Mutterlaugen der Chininherstellung gewonnen[36]). Sie enthält 5 miteinander kondensierte Sechsringe, deren Verknüpfung durch die Entstehung von *1,8-Dimethyl-picen*[37]) bei der Selendehydrierung bewiesen wurde. Ihre jetzt in fast allen Einzelheiten gesicherte Struktur wird durch die Formel XXIX wiedergegeben[38]):



XXIX.



1,8-Dimethylpicen.

Auch hier zeigt wieder die verhältnismäßig rasche Aufklärung der Konstitution — es sind bisher 8 Mitteilungen erschienen — den Fortschritt, den die Chemie der hydroaromatischen Ringsysteme inzwischen gemacht hat, ein Fortschritt, der in nicht geringem Maße mitbedingt ist durch Anregungen, die von der Steroidchemie ausgingen.

Inzwischen ist das Gebiet der Steroide nach allen Seiten wohl ausgebaut worden und steht an Bedeutung und Vielseitigkeit den bekannten großen Naturstoffgruppen kaum nach. Die Chemie dieser neuen Stoffklasse ist schon jetzt ziemlich abgerundet und läßt keine großen Überraschungen mehr erwarten. Die Erkenntnis der Physiologie der Steroide, die Aufklärung des Weges ihrer Entstehung und ihres Abbaus und die Deutung ihrer biologischen Wirkungsweise sind die Früchte, die die zähe Erforschung der chemischen Grundlagen hervorbringen wird.

Literatur.

[1]) Vgl. z. B. die Zusammenfassung von A. BUTENANDT, Naturwiss. **24**, 529 u. 545 (1936). — [2]) Naturwiss. **30**, 1 (1942). — [3]) H. WIELAND u. H. SORGE, Hoppe-Seylers Z. **98**, 59 (1916). — [4]) A. WINDAUS, A. BOHNE u. E. SCHWARZKOPF, Hoppe-Seylers Z. **140**, 167 (1924). — H. WIELAND u. G. REVEREY, Hoppe-Seylers Z. **140**, 186 (1924). — [5]) A. WINDAUS u. A. BOHNE, Liebigs Ann. **433**, 278 (1923). — A. WINDAUS, Liebigs Ann. **447**, 233 (1926). — [6]) A. WINDAUS u. K. NEUKIRCHEN, Ber. dtsch. chem. Ges. **52**, 1915 (1919). — [7]) A. WINDAUS u. C. RESAU, Ber. dtsch. chem. Ges. **46**, 1246 (1913). — [8]) L. RUZICKA u. Mitarb., Helvet. chim. Acta **17**, 1395 (1934). — [9]) H. WIELAND, E. DANE u. E. SCHOLZ, Hoppe-Seylers Z. **211**, 261 (1932). — [10]) H. WIELAND u. E. BOERSCH, Hoppe-Seylers Z. **106**, 190 (1919). — H. WIELAND u. O. SCHLICHTING, Hoppe-Seylers Z. **150**, 267 (1925). — [11]) H. WIELAND u. E. DANE, Hoppe-Seylers Z. **210**, 268 (1932). — [12]) H. WIELAND u. A. KUHLENKAMPFF, Hoppe-Seylers Z. **108**, 295 (1919). — [13]) H. WIELAND, Hoppe-Seylers Z. **108**, 306 (1919). — [14]) H. WIELAND u. O. SCHLICHTING, Hoppe-Seylers Z. **119**, 76; **123**, 213 (1922). — [15]) H. WIELAND u. P. WEYLAND, Hoppe-Seylers Z. **110**, 123 (1920). — [16]) A. WINDAUS u. O. DALMER, Ber. dtsch. chem. Ges. **52**, 162 (1919). — [17]) O. ROSENHEIM u. H. KING, J. Soc. chem. Ind. **51**, 464 (1932). — [18]) O. DIELS u. W. GÄDKE, Ber. dtsch. chem. Ges. **60**, 140 (1927). — O. DIELS, W. GÄDKE u. P. KÖRDING, Liebigs Ann. **459**, 1 (1927). — O. DIELS u. A. KERSTENS, Liebigs Ann. **478**, 129 (1929). — [19]) L. RUZICKA, M. W. GOLDBERG u. G. THOMANN, Helvet. chim. Acta **16**, 812 (1933). — [20]) H. WIELAND u. W. SCHULENBURG, Hoppe-Seylers Z. **114**, 167 (1921). — [21a]) H. WIELAND u. TH. POSTERNAK, Hoppe-Seylers Z. **197**, 17 (1931). — [21b]) H. WIELAND u. E. DANE, Hoppe-Seylers Z. **216**, 91 (1933). — [22]) H. WIELAND u. O. SCHLICHTING, Hoppe-Seylers Z. **134**, 276 (1924). — [23]) H. WIELAND, O. SCHLICHTING u. R. JACOBI, Hoppe-Seylers Z. **161**, 80 (1926). — [24]) H. WIELAND u. V. WIEDERSHEIM, Hoppe-Seylers Z. **186**, 229 (1930). — [25]) H. WIELAND u. E. DANE, Hoppe-Seylers Z. **219**, 240 (1933). — [26]) Vgl. z. B. L. F. FIESER u. A. U. SELIGMANN, J. amer. chem. Soc. **57**, 228, 942 (1935); **58**, 2482 (1936). — [27]) A. WINDAUS, Liebigs Ann. **447**, 233 (1926). — [28]) H. WIELAND u. M. ASANO, Liebigs Ann. **473**, 300 (1929). — [29]) Vgl. insbesondere: H. WIELAND, F. RATH u. W. BENEND, Liebigs Ann. **548**, 19 (1941). — H. WIELAND, F. RATH u. H. HESSE, Liebigs Ann. **548**, 34 (1941). — [30]) H. WIELAND u. J. WEIL, Ber. dtsch. chem. Ges. **46**, 3315 (1913). — [31]) H. WIELAND u. H. BEHRINGER, Liebigs Ann. **549**, 209 (1941). — [32]) H. WIELAND u. R. ALLES, Ber. dtsch.

chem. Ges. 55, 1789 (1922). — [33]) H. WIELAND, G. HESSE u. H. MEYER, Liebigs Ann. 493, 272 (1932). — [34]) H. WIELAND u. G. HESSE, Liebigs Ann. 517, 22 (1935). — [35]) H. WIELAND, G. HESSE u. R. HÜTTEL, Liebigs Ann. 524, 203 (1936). — [36]) H. WIELAND u. M. ERLENBACH, Liebigs Ann. 453, 83 (1927). — [37]) H. WIELAND, A. HARTMANN u. H. DIETRICH, Liebigs Ann. 522, 191 (1936). — H. WIELAND u. H. SCHLENK, Liebigs Ann. 539, 242 (1939). — [38]) W. SCHMITT u. H. WIELAND, Liebigs Ann. 542, 258 (1939).

H. Wielands Arbeiten zum Mechanismus der biologischen Oxydation.

Von WILHELM FRANKE, München.

I.

Zwei Phasen lassen sich in der Anwendung chemischer Gesichtspunkte auf das Problem der biologischen Oxydation unterscheiden[1]). In der *ersten* sucht man nach einem rein chemischen Analogon des Atmungsprozesses; die späteren Iatrochemiker (DE LE BOË SYLVIUS, TH. WILLIS) finden es — mag sein, mit nur teilweise überzeugender Argumentation — im *Verbrennungsvorgang*. Aber noch weiß man ja auch nicht, was Verbrennung chemisch bedeutet, und so wird in der folgenden phlogistischen Periode (BECHER, STAHL) zunächst einmal eine zwar falsche, doch immerhin rund ein Jahrhundert tragfähige Theorie der Verbrennungserscheinungen entwickelt. LAVOISIER verhilft einer nur teilweise von ihm stammenden neuen Auffassung zum Siege, in der das entweichende Phlogiston durch den hinzutretenden Luftsauerstoff ersetzt ist. Er erkennt die Atmung als eine Verbrennung organischer Substanz zu Kohlensäure und Wasser und beantwortet damit die erste Fragestellung der biologischen Oxydation in einer einstweilen erschöpfenden Weise. Aber schon wenige Jahrzehnte später taucht ein *zweites* Problem am wissenschaftlichen Horizont auf: Wenn die Atmung eine Verbrennung ist, wie kann sie dann bei Temperaturen erfolgen, bei denen das organische Material außerhalb der Zelle gegen Luftsauerstoff vollkommen beständig ist? Zwei prinzipiell verschiedene Erklärungsmögkeiten liegen zur Hand und sind seit den Zeiten BERZELIUS', SCHÖNBEINS und LIEBIGS in verschiedentlich abgewandelter Form von Chemikern und Physiologen diskutiert worden: entweder ist es das molekulare *Sauerstoffgas* oder es ist das organische *Substrat*, das in vivo reaktionsfähiger ist als in vitro, das „aktiviert" ist, so daß der Umsatz zwischen den beiden Reaktionspartnern schon bei physiologischen Temperaturen erfolgt.

Die ältere Schule neigte ganz überwiegend zu der ersteren Auffassung als der chemisch plausibleren. Besonders naheliegend war es, die vermutete *Sauerstoffaktivierung* in Beziehung zu setzen zu dem lange bekannten *Eisen*gehalt von Blut und Geweben; zuerst wird der Blutfarbstoff (LIEBIG 1843), später eisenhaltiges Nucleoproteid (BUNGE 1887, SPITZER 1897) als „Ferment der Atmung" angesehen. Die mittlerweile aufgekommene Enzymchemie zieht *organische* (Aldehyd-, Lipoid- oder aromatische) *Peroxyde* zur Erklärung der biologischen Sauerstoffübertragung vor. Die ENGLER-BACH*sche Peroxydtheorie* liefert eine erste, durchaus diskutierbare experimentelle Grundlage zum chemischen Verständnis der Sauerstoffaktivierung durch die Zelle: ein leicht autoxydabler Körper (A) nimmt Sauerstoff unter Bildung eines Peroxyds auf, das seinerseits die Hälfte des Sauerstoffs im aktivierten Zustande an andere schwerer oxydierbare Körper (B), etwa von der Natur der gewöhnlichen Zellbrennstoffe, abgibt:

$$A + O_2 = AO_2; \quad AO_2 + B = AO + BO.$$

Nur vereinzelt wird zur selben Zeit die entgegengesetzte Anschauung von einer *Substrataktivierung* durch die Zelle geäußert. SCHMIEDEBERG (1881) zweifelt als erster an einer Sauerstoffaktivierung in den Geweben, weil der sonst so leicht oxydierbare Phosphor darin nicht verbrannt werde, während beispielsweise Benzylalkohol oder Salicylaldehyd mit Leichtigkeit zu den entsprechenden Säuren oxydiert werden. Nach seiner Ansicht kann „die Erklärung für diese eigentümliche Erscheinung nur darin gesucht werden, daß das Gewebe bei der Vermittlung der Oxydation nicht auf den Sauerstoff, sondern auf die oxydierbaren Substanzen einwirkt, indem es sie jenem zugänglicher macht". Er lokalisiert den Angriffspunkt bereits näher und spricht von Kräften, deren Aufgabe darin besteht, „daß sie den *Wasserstoff* in den Verbindungen lockern, ihn gleichsam mobil machen und zwingen, sich entweder mit dem Sauerstoff des Blutes oder eines anderen Paarlings zu verbinden". Unabhängig gelangt bald darauf PFEFFER (1889) zu ganz ähnlichen Anschauungen für den Fall der Pflanzenatmung, im wesentlichen auf Grund der Beobachtung, daß in der intakten lebenden Pflanzenzelle keine der bekannten in vitro-Reaktionen des aktiven Sauerstoffs festzustellen ist. Irgendeine Erweiterung im Sinne einer ausgearbeiteten Theorie der Zellatmung haben diese Hypothesen nicht gefunden; eine chemische Grundlage wäre an sich gegeben gewesen in den fast gleichzeitigen Experimentaluntersuchungen M. TRAUBES (1882) zur „*indirekten Autoxydation*": nach seiner Anschauung handelt es sich bei Autoxydationen (z. B. von unedlen Metallen) in *wäßrigem* Medium nicht um primäre Peroxydbildungen (im Sinne von ENGLER-BACH), sondern um gekoppelte Prozesse, bei denen das für sich allein zur meßbaren Wasserzersetzung nicht befähigte Metall durch die Affinität des (im Wasser gebundenen) Wasserstoffs zum

[1]) Über die geschichtliche Seite dieses Problems vgl. z. B. F. LIEBEN, Geschichte der physiol. Chemie (Leipzig u. Wien 1935) und W. FRANKE bei H. v. EULER, Die Katalasen und die Enzyme der Oxydation und Reduktion (München 1934).

elementaren Sauerstoff die Fähigkeit zur *Wasserspaltung* gewinnt:

Hier setzen nun — 30 Jahre später — WIELANDS bahnbrechende Arbeiten *„Über den Mechanismus der Oxydationsvorgänge"* ein. Ihm gebührt das bleibende Verdienst, für die an sich ausbaufähigen, aber doch rein hypothetischen Anschauungen SCHMIEDEBERGS und PFEFFERS das *chemische* Rüstzeug zur experimentellen Verifizierung geliefert zu haben, auf einer Grundlage, die — der TRAUBEschen Theorie verwandt — doch gerade den *biologischen* Verhältnissen (z. B. der Fermentspezifität) besser gerecht wird als diese.

II.

WIELANDS erster Schritt (1912) beim Aufbau seiner berühmten *Dehydrierungstheorie* bestand darin, die komplizierten Reaktionsfolgen des oxydativen Abbaus in der Zelle auf einfache „Modellreaktionen" mit bekannten Reaktionspartnern und definierten Katalysatoren zurückzuführen (1). Die im organischen Laboratorium viel angewandte *katalytische Hydrierung mit Palladium* bringt ihn auf den Gedanken, ob es sich hier womöglich nicht um einen *reversiblen* Prozeß handelt, bei dem das Gleichgewicht nur durch die Besonderheit der präparativen Methodik — großer Wasserstoffüberschuß — zum Endziel der praktisch vollständigen Hydrierung verschoben ist. Das Experiment gibt ihm recht: in der Tat zerfallen am wasserstofffreien Palladium unter Luftausschluß Verbindungen wie Dihydronaphthalin, Dihydroanthrazen u. dgl. unter meßbarer Bildung der um zwei Wasserstoffatome ärmeren Verbindung nach dem allgemeinen Schema:

$$RH_2 \rightleftharpoons R + 2H\ ^{1,2}).$$

Auch *feuchte* Aldehyde setzen sich — im Gegensatz zu den nicht reagierenden *trockenen* — in analoger Weise um, was von WIELAND als Dehydrierung eines intermediär gebildeten Aldehyd*hydrats* gedeutet wird (2):

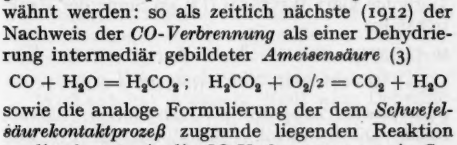
$$R \cdot CHO + H_2O \rightleftharpoons R \cdot CH\begin{matrix}OH\\OH\end{matrix} \rightleftharpoons R \cdot COOH + 2H.$$

Natürlich stellen diese Vorgänge am Palladiumkontakt noch keine *katalytische* Dehydrierung im strengen Sinne dar, das Metall ist nicht eigentlich *Katalysator*, sondern *reagierende Masse* (indem es den Wasserstoff aufnimmt). Die Reaktionen lassen sich aber zu katalytischen gestalten, wenn man dem Palladium die Bürde des aufgenommenen Wasserstoffs durch Zugabe eines Oxydationsmittels dauernd abnimmt und damit das Gleichgewicht zwischen Wasserstoff-*„Donator"* und -*„Acceptor"* in der primären Dehydrierungsreaktion dauernd stört und im Sinne obiger Gleichungen nach der rechten Seite verschiebt. Es ist naheliegend, *Sauerstoff* als *Depolarisator* des Palladiums anzuwenden. Indes ist bei allen Vorgängen, bei denen man etwas über den *Reaktionsmechanismus* erfahren will, diese Wahl des Wasserstoffacceptors nicht zweckmäßig; denn der Einwurf, daß bei Gegenwart von Palladium der Sauerstoff, aktiviert über ein Metallperoxyd, auf das Substrat einwirke, läßt sich nicht leicht überzeugend entkräften. Eindeutig ist hingegen der Charakter einer am Palladium sich abspielenden Reaktion als einer katalytischen *Dehydrierung* — im Gegensatz zur *Oxydation* im engeren Sinne — festgestellt, wenn sie statt mit Sauerstoff auch mit anderen Wasserstoffacceptoren, am besten sauerstofffreien, bei denen eine „Aktivierung" durch das Platinmetall rein chemisch nicht gut vorstellbar ist, durchgeführt werden kann. Bereits in seiner ersten Arbeit zur Dehydrierungstheorie (1) hat WIELAND von diesem nachmals so wichtig gewordenen Kriterium für die Wesensart eines Oxydationsvorgangs Gebrauch gemacht, indem er die katalytische Dehydrierung von Alkohol sowohl mit Sauerstoff als auch mit Chinon (und später Methylenblau) als Acceptor durchführte und damit den Charakter der DAVY-DÖBEREINERschen Reaktion, die fast 100 Jahre lang als das typische Beispiel einer *Sauerstoff*aktivierung durch das Platinmetall gegolten hatte, als eine Verbrennung katalytisch aktivierten *Wasserstoffs* erkannte. In zahlreichen folgenden, rein chemischen Arbeiten, die sich bis in die 30er Jahre erstrecken, hat WIELAND den Grundgedanken seiner Dehydrierungstheorie in den verschiedensten Richtungen unter weitgehender Variierung von Donator, Acceptor und Katalysator weiterentwickelt.

Hier können nur die wichtigsten dieser ausgezeichneten Experimentaluntersuchungen kurz erwähnt werden: so als zeitlich nächste (1912) der Nachweis der *CO-Verbrennung* als einer Dehydrierung intermediär gebildeter *Ameisensäure* (3)

$$CO + H_2O = H_2CO_2; \quad H_2CO_2 + O_2/2 = CO_2 + H_2O$$

sowie die analoge Formulierung der dem *Schwefelsäurekontaktprozeß* zugrunde liegenden Reaktion — die ebenso wie die CO-Verbrennung nur in Gegenwart von H_2O-Spuren verläuft — als Dehydrierung von H_2SO_3 (4); die einheitliche Deutung der durch Palladium katalysierten Wasserstoffabspaltungen aus *Ameisensäure*, *unterphosphoriger* und *phosphoriger Säure* im Sinne des Dehydrierungsschemas (1923), z. B. für den Fall des Hypophosphits (5) nach



[1]) Die klassische acceptorfreie Dehydrierung von *Hydrochinon* zu Chinon ist zugegebenermaßen aus der Gruppe dieser Modellreaktionen zu streichen [L. J. GILLESPIE u. LIU, J. amer. chem. Soc. **53**, 3969 (1931) — A. BERTHO, Erg. Enzymforsch. **2**, 210 (1933)].

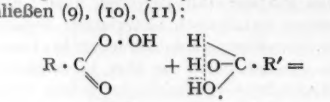
[2]) Daneben tritt u. U. durch H-Acceptorwirkung eines Substratteils das Bild der *Disproportionierung* auf (bei Dihydronaphthalin zu Naphthalin + Tetrahydronaphthalin führend).

In diesen Arbeiten, zu denen noch eine weitere über den Mechanismus der H_2-Abspaltung aus dem System Formaldehyd + H_2O_2 (6) hinzuzurechnen ist, hat WIELAND zugleich Stellung genommen gegen die ältere TRAUBE-BACH*sche Theorie der Oxydoreduktion*, nach der die *Spaltung des Wassermoleküls* im Mittelpunkt des Reaktionsgeschehens stehen sollte, z. B. nach

$$H_3PO_2 + \begin{matrix} OH \\ OH \end{matrix}\Big|\begin{matrix} H \\ H \end{matrix} = H_3PO_3 + H_2O + H_2\,[1].$$

[Zur Frage der CO-Oxydation vgl. auch die spätere, wohl nicht eindeutig entschiedene Diskussion zwischen W. TRAUBE und LANGE[2]) und WIELAND (7).]

Von *organischen* Modellreaktionen zur Dehydrierungstheorie seien genannt: die oxydative Entfärbung des *Indigos* — seit SCHÖNBEINS Zeiten als Schulbeispiel einer *Oxydations*katalyse geltend —, die WIELAND (8) als Folge zweier dem *Dehydrierungs*mechanismus gehorchenden Umsetzungen erkennt, der primären Bildung von Dehydroindigo und dessen nachträglicher Disproportionierung zu Isatin und Indigo (1921); die Autoxydation der *Aldehyde* (8), bei deren Studium WIELAND selbst in sehr kritischer Weise gegenüber BACH[3]) die Grenze zwischen dem Geltungsbereich der ENGLER-BACHschen und seiner eigenen Theorie zieht (9): für die Autoxydation *trockener* Aldehyde (wie auch anderer *ungesättigter* Systeme) gilt nach wie vor die Peroxydtheorie; in *wäßriger* Lösung kann sich an die primäre Peroxydierung eine sekundäre Dehydrierung von Aldehydhydrat durch die Persäure anschließen (9), (10), (11):



$$= R \cdot C\begin{matrix} OH \\ O \end{matrix} + H_2O + \begin{matrix} O \\ HO \end{matrix}C \cdot R'.$$

Den zuerst von WARBURG und NEGELEIN[4]) angegebenen oxydativen Abbau von *Aminosäuren* an Tierkohle klärt WIELAND (12) im Sinne der Reaktionsfolge

$$R \cdot CH(NH_2) \cdot COOH \xrightarrow{-2H} R \cdot C{:}(NH) \cdot COOH \xrightarrow{-CO_2}$$
$$R \cdot CH{:}(NH) \xrightarrow{+H_2O} R \cdot CHO + NH_3,$$

wobei sowohl Sauerstoff als auch Chinon, Alloxan, Isatin, Dinitrobenzol, Diäthylperoxyd (13) und ähnliche Verbindungen, den Wasserstoff der Primärreaktion aufnehmen können[5]).

[1]) In neuester Zeit hat sich die Richtigkeit der WIELANDschen Auffassung in verschiedenen Fällen durch Versuche mit Deuterium als Indikator beweisen lassen [vgl. K. WIRTZ u. BONHOEFFER, Z. physik. Chem. B **32**, 108 (1936) und W. FRANKE u. MÖNCH, Liebigs Ann. **550**, 1 (1941)].

[2]) Ber. dtsch. chem. Ges. **58**, 2773 (1925); **59**, 2860 (1926).

[3]) Ber. dtsch. chem. Ges. **46**, 3864 (1913).

[4]) Biochem. Z. **113**, 257 (1921).

[5]) Dagegen hat WIELAND die von E. BAUR, WUNDERLY u. a. behauptete *hydrolytische* NH_3-Abspaltung aus Aminosäuren an Kohle [Helvet. chim. Acta **5**, 825 (1922); **14**, 671 (1931); **15**, 721 (1932); **16**, 80, 515, 1009, 1013 (1933) — Z. physik. Chem. **112**, 175 (1924); BODENSTEIN-Festband S. 162 (1931)] später experimentell widerlegen können (13a).

Mehrere Arbeiten aus späterer Zeit (1927—30) befassen sich mit der oxydationskatalytischen Wirkung des *Eisens* gegenüber den verschiedensten anorganischen und organischen Substraten (14), (15), (16), (17), (18), (19), die seit MANCHOT[1]) (1901) durch eine intermediäre Bildung von Peroxyden (FeO_2 bzw. Fe_2O_5) erklärt worden war. WIELAND stellt im Gegensatz hierzu eine den *Substratwasserstoff* aktivierende Funktion des (komplex gebundenen) Eisens zur Diskussion, vor allem auf Grund der Beobachtung, daß sich unter günstigen Bedingungen „Aktivierungsgrade" erreichen lassen, die den nach der Peroxydtheorie zu erwartenden Umsatz ums Vielfache übertreffen. [In dieselbe Richtung weisen auch Befunde von OBERHAUSER und Mitarbeitern an der sog. „aktiven" Oxalsäure, die WIELAND (20) nachgeprüft und wesentlich erweitert hat.] Eine Schwierigkeit dieser Auffassung liegt allerdings darin, daß das wichtigste Kriterium einer Dehydrierung, dieErsetzbarkeit des Sauerstoffs durch andere H-Acceptoren, bei diesen Eisenkatalysen nur in den seltensten Fällen erfüllt ist.

Schließlich beschäftigt sich eine Anzahl von Arbeiten mit Entstehung und Umsetzungen des *Hydroperoxyds* (8), (21), (22), das nach der Dehydrierungstheorie stets als *Primärprodukt* der Reaktion zwischen gelockertem Wasserstoff und molekularem Sauerstoff zu erwarten ist:

$$RH_2 + O_2 = R + H_2O_2.$$

Sein Zerfall — sei es durch Schwermetall- oder enzymatische Katalyse — wird als ein Beispiel gekoppelter *intermolekularer* Dehydrierung und Hydrierung betrachtet (1921):

1. $H_2O_2 = O_2 + 2H$; 2. $H_2O_2 + 2H = 2H_2O$;

Belege für diese Auffassung bilden gewisse eingehend studierte *Reduktions*wirkungen des H_2O_2 [z. B. gegen Dehydroindigo, Nitrosodisulfonsäure, Persäuren (8)] sowie die dem obigen Reaktionsschema entsprechende eisenkatalysierte Disproportionierung von *Diäthylperoxyd* zu Alkohol und Aldehyd (13), (23):

$$2\begin{matrix} C_2H_5O \\ | \\ C_2H_5O \end{matrix} = 2\,C_2H_5OH + 2\,C_2H_4O.$$

III.

Bereits ein Jahr nach der erstmaligen Formulierung und Erprobung seiner Theorie am Palladiummodell hat WIELAND (24) die Übertragung seiner Gedankengänge auf die Reaktionen *biologischen* Materials vorgenommen (1913): Die *Essigsäuregärung* des Alkohols ließ sich sowohl mit lebenden Kulturen als auch Acetonbakterienpräparaten *sauerstofflos* gestalten; Chinon oder Methylenblau vermochten den Sauerstoff als Wasserstoffacceptor

[1]) Z. anorg. Chem. **27**, 397, 420 (1901) — Ber. dtsch. chem. Ges. **34**, 2479 (1901).

zu ersetzen unter Übergang in Hydrochinon bzw. Leukomethylenblau.

Fünf Systeme waren es vor allem, an denen WIELAND in den folgenden $2^1/_2$ Jahrzehnten seine Theorie hinsichtlich der Frage der biologischen Oxydation geprüft und ausgebaut hat: außer den dehydrierenden Enzymen der *Essigbakterien* waren dies das SCHARDINGER-*Enzym* (bzw. die Xanthindehydrase) *der Milch*, die Dehydrasen des *Muskelgewebes*, diejenigen der *Hefe* und schließlich gewisse *Phenoloxydasen* und *-peroxydasen* pflanzlichen Ursprungs.

Am vollkommensten und reibungslosesten paßt sich das Ergebnis der Untersuchungen am SCHARDINGER-Enzym — begonnen 1914, wiederaufgenommen 1929—32 — dem Dehydrierungsschema ein, während dieses — um die Entwicklung gleich vorwegzunehmen — in seiner strengen Form bei den Muskel- und Bakteriendehydrasen den Tatsachen nur *teilweise* und *bedingt*, bei den Oxydasen und Peroxydasen *nicht* gerecht wird.

Für das Milchenzym konnte WIELAND jedenfalls schon 1914 eindeutig zeigen, daß es das gleiche Ferment ist, welches sowohl für die eigentliche „SCHARDINGER-*Reaktion*" — Entfärbung von Methylenblau durch Aldehyde in Gegenwart roher Milch (1902) — als auch den oxydativen *Aldehydumsatz mit Sauerstoff* verantwortlich zu machen ist (25). Wichtigstes Mittel beim Nachweis dieser Identität von „Oxydase" und „Dehydrase" war die Beobachtung des vollkommen gleichartigen Verhaltens der beiden Funktionen bei einer *Schädigung* des Ferments[1]).

Eine weitere beachtliche Beobachtung am SCHARDINGER-Enzym war der von der Dehydrierungstheorie geforderte und hier erstmals geglückte Nachweis von *Hydroperoxyd* bei der O_2-Reaktion (26), (27), der — bei Verwendung katalasearmen Enzyms und eines „Abfangverfahrens" (mit Ce^{III}-Hydroxyd) – fast quantitativ gelang (1929/30):

$$R \cdot CH(OH)_2 + O_2 = R \cdot COOH + H_2O_2 .$$

Da sich Hydroperoxyd als starkes Enzymgift erwies, fand hierdurch die schon früher (1922) von WIELAND (28), (29) vermutete biologische Funktion der *Katalase* als eines „Schutzferments" ihre erste experimentelle Verifizierung.

Die geglückte Beweisführung im Fall des SCHARDINGER-Enzyms führte der WIELANDschen Dehydrierungstheorie auch außerhalb Deutschlands neue bedeutende Anhänger zu: HOPKINS[2]) in England erweitert die WIELANDschen Befunde durch den Nachweis ganz analoger Verhältnisse bei der enzymatischen *Xanthin*dehydrierung (1922), THUNBERG[1]) in Schweden entwickelt am Beispiel der Muskeldehydrasen die Lehre von der *Spezifität* der Dehydrasewirkungen (1920). WIELAND (29) selbst gibt 1922 in den „Ergebnissen der Physiologie" die erste große Zusammenfassung seiner Theorie, die — auf breitester experimenteller wie theoretischer Basis ruhend — ebensowohl Rückschau auf das bisher Geleistete wie Programm für zukünftige Forschung auf diesem Gebiet darstellt.

IV.

In den nächsten Jahren beginnen jene grundsätzlichen Auseinandersetzungen mit der Theorie WARBURGS, deren grundlegende Arbeit — „Über die Rolle des Eisens in der Atmung des Seeigeleis nebst Bemerkungen über einige durch Eisen beschleunigte Oxydationen"[3]) — bereits 1914, also 2 Jahre nach WIELANDS erster Veröffentlichung zur Dehydrierungstheorie erschienen war und die später — im Gegensatz zu den früheren *Hypothesen* über eine Sauerstoffaktivierung durch Eisen — in den Jahren nach dem Kriege eine recht weitgehende Stützung durch Modellreaktionen erfahren hatte[3]). Die sehr energischen Angriffe seines Gegners (1923 bis 1925) zwangen auch WIELAND zu aktiver Stellungnahme, wobei, trotz aller Entschiedenheit, von seiner Seite nie gegen die Regeln eines *rein wissenschaftlichen* Kampfes verstoßen wurde.

Es ist hier nicht der Ort, auf die — einander teilweise widersprechenden — verschiedenen Entwicklungsphasen der WARBURGschen Theorie näher einzugehen. Während 1925 das Atmungsferment als „die Summe *aller* katalytisch wirksamen Eisenverbindungen, die in der Zelle vorkommen", definiert wird, kommt WARBURG[4]) 1929 nach seinen Studien am Phäohäminferment der Hefe zu dem Schluß, „daß alle Eisenatome, die den Sauerstoff in der Atmung einer Zellart übertragen, *identisch* gebunden sind"; nach weiteren 2 Jahren gibt er die von ihm vorher stets geleugnete spezifische *Substrat*aktivierung zu und baut selbst enzymatische Atmungssysteme auf, in denen diese Substrataktivierung und nicht die Sauerstoffaktivierung durch Eisen reaktionsauslösend wirkt[5]).

WIELAND hat in diesem Streit seine Dehydrierungstheorie — abgesehen von kleineren Modifikationen — in ihrer ursprünglichen Form verfochten. Es bedeutet keine Schmälerung seiner Verdienste, wenn er hier nicht in allen Punkten recht behalten hat, wenn tatsächlich in einer Reihe von Fällen *neben* der obligaten Substratwasserstoffaktivierung zum kompletten Atmungsvorgang noch eine gewisse Sauerstoffaktivierung — falls man mit

[1]) Die von WIELAND auf Grund von Versuchen an *roher* Milch ursprünglich vertretene Ansicht, daß auch die Aldehyd-*Dismutation* auf das gleiche Enzym zurückzuführen sei, hat durch neuere Untersuchungen M. DIXONS [Biochemic. J. **31**, 1347 (1937) — Erg. Enzymforsch. **8**, 217 (1939)] an *gereinigten* Fermentpräparaten eine Berichtigung erfahren: Aldehydmutase und Aldehydrase sind bestimmt *verschiedene* Fermente.

[2]) Proc. roy. Soc. Lond. (B) **94**, 109 (1922).

[1]) Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **40**, 1 (1920).

[2]) Hoppe-Seylers Z. **92**, 231 (1914).

[3]) O. WARBURGS experimentelle und polemische Beiträge zum Atmungsproblem (bis 1927) finden sich zusammengestellt in seinem Buch „Über die katalytischen Wirkungen der lebenden Substanz" (Berlin 1928).

[4]) Z. Elektrochem. **35**, 928 (1929).

[5]) Biochem. Z. **233**, 240; **238**, 131; **242**, 206 (1931).

diesem Ausdruck die doch tatsächlich vorliegende *Autoxydabilität* einer niederwertigen Metallstufe (Fe^{II}, Cu^{I}) bezeichnen will — erforderlich ist. Gerade die Kompromißlosigkeit der Formulierungen in diesem Streit hat viel zu der — wie es scheint — heute erreichten befriedigenden Abgrenzung des Funktionsbereichs beider Mechanismen beigetragen.

Das zentrale Problem dieser Auseinandersetzungen war die — von WARBURG[1]) als Bindung aktiven Schwermetalls gedeutete — *Blausäure*empfindlichkeit *aerober* Lebensvorgänge im Gegensatz zur Unempfindlichkeit anaerober Prozesse vom Typus der *Gärungen* wie auch der enzymatischen *Acceptorreaktionen* mit Chinon oder Methylenblau. WIELAND (28), (29), (30) hatte die HCN-Wirkung anfänglich (1922/23) als eine *indirekte* gedeutet; sie sollte nicht an der *Dehydrase*, für die er grundsätzliche Bereitschaft zur Reaktion mit O_2 annahm, sondern an der *Katalase* angreifen, wodurch es zur Anhäufung des Zellgiftes *Hydroperoxyd* und damit zur Sistierung der Atmung käme[2]). Später hat er den Anspruch auf *Allgemeingültigkeit* dieser Theorie — die immerhin nicht ohne experimentelle Stütze ist (vgl. SCHARDINGER-Enzym) — selbst zurückgezogen, einmal unter dem Eindruck schwerwiegender Einwände WARBURGS (schlagartiges Einsetzen und Reversibilität der HCN-Hemmung, fehlender H_2O_2-Nachweis), teils auf Grund eigener Beobachtungen an Essigbakterien (31) und Muskelgewebe (32), (33), wo sich die Katalase als ebenso HCN-empfindlich bzw. unempfindlicher erwiesen hatte als das aerobe Dehydrierungssystem.

Das „Standardferment" der Dehydrierungstheorie, das SCHARDINGER-Enzym, stand auch hier wie in anderen Fällen wieder in Sonderklasse, insofern, als es aerob wie anerob keine bzw. eine gleich geringfügige Hemmung durch HCN erfuhr (26), (27), (34).

Die *neuere Erklärung* (1928—31), die WIELAND (35) nach den Untersuchungen an Bakterien- und Muskelenzymen zu geben versuchte, führte die HCN-Hemmung auf die starke Affinität des Giftes zur wirksamen Enzymoberfläche und eine dadurch bedingte selektive *Verdrängung des Sauerstoffs* zurück, wie sie unter Umständen auch durch andere Stoffe, z. B. Chinon, bewirkt werden konnte. Aber auch diese Vorstellung wies nicht die Zwanglosigkeit der WARBURGschen Erklärung auf. Vor allem befriedigte sie nicht recht im Hinblick auf die Möglichkeit bestimmter Voraussagen; denn keineswegs *alle* Atmungssysteme der Zelle sind HCN-empfindlich, sondern nur die nachweislich schwermetallhaltigen. Als Beispiel sei angeführt, daß die Atmung sowohl der *Essig-* (31) als der *Milchsäurebakterien*[1]) durch Chinon hemmbar ist; aber die letzteren sind im Gegensatz zu ersteren HCN-*unempfindlich*. Im Einklang damit steht, daß die Essigbakterien Katalase, Cytochrom und Cytochromoxydase enthalten[2]), die Milchsäurebildner weder das eine noch das andere[1]).

Dazu kamen noch gewisse Schwierigkeiten in der Frage der *Acceptorspezifität* der Dehydrasen. Anders als das SCHARDINGER-Enzym, das in idealer Weise mit O_2, H_2O_2, Nitrat, Chinon und den verschiedensten Farbstoffen als Acceptoren reagierte, zeigt die Mehrzahl der bekannten Dehydrasen engere Spezifität: während sie, an die Zelle gebunden oder häufig auch noch in Form von Enzymrohpräparaten, sowohl mit O_2 als mit anderen Acceptoren zu reagieren vermögen, verlieren sie die Fähigkeit zur Reaktion mit O_2, *nicht* mit den übrigen Acceptoren, im stärker gereinigten Zustand. Befunde dieser Art sind fast gleichzeitig (1928) für die Dehydrasen der Milchsäure[3, 4]), Citronensäure[3]) und Bernsteinsäure[5, 6]) erhoben worden und zeigten, daß die Dehydrierungstheorie in ihrer *strengen* Form nicht zu halten war. Rein deskriptiv hat DIXON[7]) 1929 die Dehydrasen je nach ihrem Verhalten zu O_2 in *aerobe* (vom Typus des SCHARDINGER-Enzyms) und *anaerobe* (vom Typus der Succino- und der meisten anderen „Acido"-Dehydrasen) eingeteilt; von THUNBERG[8]) (1930) stammen die besseren Bezeichnungen *oxytrope* und *anoxytrope* Dehydrasen.

Daneben bestand aber noch eine schon um die Jahrhundertwende aufgefundene, im wesentlichen auf Körper *phenolischer* Natur eingestellte Gruppe von Oxydationsenzymen, die, wie auch WIELAND (1926—28) bestätigen mußte, selbst im gereinigten Zustande ausschließlich mit *Sauerstoff*, nicht mit irgendeinem anderen H-Acceptor reagierten und die zudem bei ihrer aeroben Funktion, selbst in Abwesenheit von Katalase und Peroxydase, *kein Hydroperoxyd* lieferten (36); es war dies die von BERTRAND, BACH, ONSLOW u. a. viel studierte Gruppe der *Oxydasen* im engeren Sinne, für deren Verhalten die Dehydrierungstheorie, falls sie nicht eine ganz abnorme Acceptorspezifität verantwortlich machen wollte, gleichfalls keine bündige Erklärung hatte. Dazu kam weiterhin die Tatsache, daß die ganze Fermentgruppe — einschließlich der verwandten, mit H_2O_2 statt mit O_2 regierenden *Peroxydase* — sich als besonders empfindlich gegen kleinste Konzentrationen metallbindender Agen-

[1]) Biochem. Z. **119**, 134 (1921); **136**, 266 (1923); **142**, 518 (1923).

[2]) In den fakultativ anaeroben, katalasefreien *Pneumokokken* vermag, wie der WIELAND-Schüler M. SEVAG [Liebigs Ann. **507**, 92 (1933)] zeigte, u. U. *Brenztraubensäure* die schützende Funktion der Katalase zu übernehmen; das kräftig atmende, aber gleichfalls katalasefreie *Acetobacter peroxydans* hinwiederum zeichnet sich nach späteren Arbeiten WIELANDS (30a), (30b) durch besondere „peroxydatische" Fähigkeiten, d. h. leichte Verwertung von H_2O_2 als Acceptor, aus.

[1]) A. BERTHO u. GLÜCK, Liebigs Ann. **494**, 159 (1932).

[2]) A. BERTHO, Erg. Enzymforsch. **1**, 231 (1932).

[3]) F. BERNHEIM, Biochemic. J. **22**, 1178 (1928).

[4]) M. STEPHENSON, Biochemic. J. **22**, 605 (1928).

[5]) H. v. EULER, MYRBÄCK u. NILSSON, Erg. Physiol. **26**, 531 (1928).

[6]) L. STERN, C. r. Soc. Biol. Paris **98**, 1288 (1928).

[7]) Biol. Rev. **4**, 352 (1929).

[8]) Handb. Biochem., Erg.-Bd. S. 245 (Jena 1930).

zien wie HCN und H_2S erwies (36), (37). Als dann um 1930 durch die Untersuchungen WARBURGS[1]), KEILINS[2]), KUHNS[3]) und ZEILES[4]) die *Häm*innatur der prosthetischen Gruppen von Indophenol- bzw. Cytochromoxydase, von Peroxydase und auch Katalase erwiesen bzw. höchst wahrscheinlich gemacht worden war, da stand es außer Zweifel, daß es neben den *wasserstoff*aktivierenden Enzymen WIELANDS und THUNBERGS auch *sauerstoff*- bzw. *peroxyd*aktivierende Systeme von prinzipiell abweichendem Aufbau gibt.

V.

Die Vorstellung, daß bei der normalen Zellatmung eine *Kopplung* von Dehydrasen und Oxydasen erfolgt, ist schon 1924 — mitten im Streit zwischen *reiner* Dehydrierungs- und *reiner* Sauerstoffaktivierungstheorie — fast gleichzeitig von zwei Seiten, von FLEISCH[5]) und von v. SZENT-GYÖRGYI[6]), geäußert und später von HOPKINS, KEILIN u. a. experimentell ausgebaut und verifiziert worden. Die Frage, *wie* diese Kopplung im einzelnen geschieht, über welche *Zwischenstufen* der gelockerte Substratwasserstoff schließlich an den Sauerstoff herangeführt wird, war das Hauptproblem der biologischen Oxydation in den vergangenen $1^1/_2$ Jahrzehnten, ein Problem, das auch heute erst in den Grundzügen gelöst ist. Hand in Hand damit gingen bedeutsame Fortschritte in der Erkenntnis der stofflichen Natur der *„Hydrokinasen"* (H. WIELAND) (35), worunter hier die Gesamtheit der oxydierenden und dehydrierenden Fermente verstanden werden soll[7]). Auf der Grundlage der WILLSTÄTTERschen Vorstellung von der *Symplex*natur der Fermente können wir heute bereits zwischen den Gruppen der *Metall-*, der *Flavin-*, der *Pyridin-* und der *Aneurin*-Eiweiß-Symplexe unterscheiden[8]). In die prosthetische Gruppe der Flavinsymplexe geht Vitamin B_2 (bisweilen zusammen mit Adenin), in die der Aneurinsymplexe Vitamin B_1 ein, während die aktive Gruppe der Pyridinsymplexe aus Nicotinsäureamid-adenin-dinucleotiden (Codehydrase I und II) besteht. Bei den Metall-Eiweißkörpern handelt es sich fast durchweg um O_2 oder H_2O_2 aktivierende Fermente (Oxydasen, Peroxydase, Katalase), deren typische Wirkung im allgemeinen auf den Wertigkeitswechsel des metallischen Zentralatoms (Fe, Cu) zurückgeht. Reversible Oxydation und Reduktion — diesmal unter dem Erscheinungsbild von Hydrierung und Dehydrierung eines organischen Moleküls — findet sich als Wirkungsprinzip auch bei den metallfreien Symplexgruppen, zu denen ganz überwiegend substratspezifische Dehydrasen gehören. In Hinsicht auf die Festigkeit der Bindung zwischen prosthetischer Gruppe und Trägerprotein, die bei den Metallproteinen durchweg sehr groß ist, bestehen bei den metallfreien Klassen erhebliche quantitative Unterschiede: neben wenig dissoziationsbereiten Enzymen, wozu z. B. alle Flavin-Eiweißkörper gehören, kennt man eine große Fermentgruppe, der vor allem sämtliche Pyridinsymplexe angehören, die schon bei einfacher Dialyse ihre Aktivität reversibel verliert, und zwar infolge Entfernung eines niedermolekularen Coferments, einer Codehydrase („einfache" und „komplexe" Dehydrasen); dieses Coferment hat zuerst H. v. EULER[1]) 1935 als prosthetische Gruppe der genannten Dehydrasen angesprochen, eine Auffassung, der neuerdings freilich wieder von DIXON und ZERFAS[2]) mit immerhin beachtlichen Argumenten widersprochen worden ist.

Im heutigen Gesamtbild der Desmolyse, wie es im folgenden kurz entworfen werden soll[3, 4]), erscheinen Dehydrasen und Oxydasen (bzw. Sauerstoff) einerseits (Aerobiose), die verschiedenen Dehydrasen untereinander andrerseits (Anaerobiose) durch reversibel oxydierbare und reduzierbare *Überträger* oder *Zwischenkatalysatoren* verknüpft, wofür WIELAND (29) schon 1922 die Bezeichnung *„gestufte Dehydrierung"* gewählt hat.

Als zellwichtigstes dieser Systeme ist nach wie vor der Ende der 20er Jahre von KEILIN entdeckte — oder besser wiederentdeckte — *Cytochrom*komplex zu betrachten, der, in aeroben Zellen ubiquitär, in seiner wirksamsten Form aus drei hintereinander geschalteten, nicht unmittelbar mit Sauerstoff reagierenden Hämin-Eiweißkörpern besteht und durch die Cytochromoxydase — identisch mit der alten Indophenoloxydase und dem WARBURGschen „Atmungsferment" — oxydiert, durch Dehydrasen (vorzugsweise Succinodehydrase) reduziert wird (→ = Weg des Substratwasserstoffs):

Substrat → Dehydrase → Cytochrom →
Cytochromoxydase → Sauerstoff.

Ein analog aufgebautes System

Substrat → Dehydrase → Polyphenol →
Polyphenoloxydase → Sauerstoff,

in dem die eisenhaltige Cytochromoxydase durch die kupferhaltige *Polyphenol*oxydase und Cytochrom durch metallfreies Polyphenol ersetzt ist, ist schon vor längerer Zeit von PALLADIN, OPARIN u. a. als bedeutsam für die Pflanzenatmung angesehen

[1]) Vgl. z. B. Zusammenfassungen Naturwiss. **16**, 345, 856 (1928) — Z. Elektrochem. **35**, 549, 928 (1929) — Z. angew. Chem. **45**, 1 (1932).
[2]) Proc. roy. Soc. Lond. (B) **106**, 418 (1930).
[3]) Hoppe-Seylers Z. **201**, 255 (1931).
[4]) Hoppe-Seylers Z. **192**, 171 (1930); **195**, 39 (1931).
[5]) Biochemic. J. **18**, 294 (1924).
[6]) Biochem. Z. **150**, 195 (1924).
[7]) Auch typische Oxydasereaktionen, wie der Übergang von Phenolen, Aminophenolen und Diaminen in Chinone, Chinonimine und Diimine, sind *formal* durchaus als Dehydrierungsvorgänge zu betrachten.
[8]) Vgl. die Zusammenfassungen von a) O. WARBURG, Erg. Enzymforsch. **7**, 210 (1938); b) W. FRANKE in NORD-WEIDENHAGEN, Handb. d. Enzymologie, S. 673 (Leipzig 1940); c) H. THEORELL, ebendort, S. 846.

[1]) Hoppe-Seylers Z. **233**, 120 (1935).
[2]) Biochemic. J. **34**, 371 (1940).
[3]) Vgl. nebenstehende Fußnote 8b.
[4]) Ausführlichere Darstellung des Verfassers mit Literaturangaben s. Angew. Chem. **53**, 580 (1940).

worden. Neuerdings geht aber die Auffassung dahin, daß wahrscheinlich auch in der Pflanze ebenso wie im Tier das Cytochromsystem der wichtigste Überträgermechanismus ist.

Die Zellbedeutung der *Flavin*-Protein-Symplexe, deren erster Vertreter vor rund einem Jahrzehnt durch WARBURG und CHRISTIAN in Form des sog. „gelben Oxydationsferments" isoliert und in synthetischen Systemen der Art

Substrat → Dehydrase → Codehydrase →
→ Flavinferment → Sauerstoff

näher untersucht worden ist, ist auch heute noch nicht ganz befriedigend geklärt. Soweit sie nicht als selbständige oxytrope Dehydrasen wirken (SCHARDINGER-Enzym, Aminosäure-, Glucose-aerodehydrase), kommt ihre Einschaltung entweder zwischen „komplexen" Dehydrasen — die nicht unmittelbar mit Cytochrom zu reagieren vermögen — und dem Cytochromkomplex oder zwischen „komplexen" und „einfachen" Dehydrasen — unter letzteren vorzugsweise der Succinodehydrase — in Betracht. Diese vermutlich zellwichtigsten Flavin-Eiweißkörper wirken als „Anaerodehydrasen" der hydrierten Cofermente und werden nach v. EULER als *Diaphorasen* bezeichnet.

Schließlich sind in den letzten Jahren Tatsachen bekanntgeworden, die dafür sprechen, daß auch *Metabolite* (THUNBERG) bzw. *Metabolitsysteme* in kleinen Konzentrationen als reversible Wasserstoffüberträger zu wirken vermögen. 1934 hat v. SZENT-GYÖRGYI eine derartige wasserstoffübertragende Wirkung der C_4-*Dicarbonsäuren* (Oxalessigsäure — Äpfelsäure — Fumarsäure — Bernsteinsäure) angegeben, die den von „komplexen" Dehydrasen gelockerten Wasserstoff letztlich über die Succinodehydrase dem Cytochromsystem zuführen. 1937 hat KREBS diesem Mechanismus einen anderen mit der Schlüsselsubstanz *Citronensäure* gegenübergestellt, deren *Abbau* über Isocitronensäure—α-Ketoglutarsäure—Bernsteinsäure—Oxalessigsäure, deren *Aufbau* aus Oxalessigsäure + Brenztraubensäure als wasserstoffübertragendes Prinzip angesehen wird. Das C_4-Dicarbonsäureschema v. SZENT-GYÖRGYIS wäre an sich der universellere Abbaumodus, während der Citronensäurecyclus sich eigentlich nur auf die Verbrennung der Brenztraubensäure, die allerdings im Kohlehydratabbau eine zentrale Stellung einnimmt, bezieht. Die Diskussion für und wider jeden der beiden Mechanismen — von denen der C_4-Dicarbonsäurecyclus allerdings durch die spätere Entdeckung der Diaphorasen stark an Bedeutung verloren hat — ist auch heute noch nicht abgeschlossen.

Neben den genannten Systemen spielt eine Überträgerwirkung von *Glutathion*, *Ascorbinsäure*, *Dioxymaleinsäure*, *Adrenalin* u. ä., die des öfteren behauptet, doch nur lückenhaft oder nur an Spezialsystemen experimentell belegt worden ist, sicher *in vivo* — wenn überhaupt — bloß eine untergeordnete Rolle.

Bei der Grundreaktion der *Gärung*, allgemein der *Anaerobiose*, wo es sich um die Umsetzung zweier Dehydrasesysteme miteinander handelt, stellen die *Codehydrasen* die mit Abstand wichtigsten — wenn auch vielleicht nicht einzigen — Wasserstoffüberträger dar. Nach v. EULER verlaufen jedenfalls die fundamentalen Oxydoreduktionen von alkoholischer und Milchsäuregärung im Sinne eines Pendelns der Codehydrase (Co) bzw. Dihydrocodehydrase (CoH_2) zwischen den beiden „Apodehydrasen" bzw. den Substraten S^IH_2 und S^{II} nach folgendem Schema:

$$S^IH_2 + Co \rightleftharpoons S^I + CoH_2;$$
$$S^{II} + CoH_2 \rightleftharpoons S^{II}H_2 + Co.$$

Zusammenfassend läßt sich nochmals feststellen, daß sowohl bei der Atmung wie bei der Gärung eine Einschaltung von Zwischenkatalysatoren erfolgt, im ersten Falle allerdings in größerer Mannigfaltigkeit als im zweiten. In dieser formalen Einheit des Mechanismus beider Stoffwechselformen sind die wichtigsten Grundgedanken von WIELAND und WARBURG zum Ausgleich gekommen: WIELANDS Vorstellung von der primären Aktivierung des Wasserstoffs und WARBURGS Vorstellung von der Unfähigkeit des molekularen Sauerstoffs zu unmittelbarem Umsatz mit der organischen Substanz. Die Frage, warum die Zelle den aktivierten Substratwasserstoff im allgemeinen nicht direkt, sondern allermeist durch Vermittlung eines Überträgers, ja ganzer Systeme hintereinandergeschalteter Überträger dem molekularen Sauerstoff zuführt, können wir heute nur vermutungsweise beantworten. Wahrscheinlich liegt hier der Grund, warum die Zellatmung in Wirklichkeit doch viel mehr ist als eine bloße Verbrennung, die ein ungeordnetes und darum *irreversibles*, im Prinzip lebensfeindliches Geschehen ist; vermutlich verschafft sich die Zelle durch diese Aufteilung der gesamten Abbauenergie in einzelne Teilphasen die Möglichkeit einer *reversiblen* Umwandlung von chemischer Energie in nutzbare Arbeit und damit zusammenhängend die Möglichkeit einer jederzeitigen Umschaltung *energieliefernder* Reaktionen des Abbaus in solche des Aufbaus, der *energieverbrauchenden* Synthese.

VI.

Um wieder auf die WIELANDsche Dehydrierungstheorie zurückzukommen, so bedeutete die Unfähigkeit der meisten Dehydrasen zur direkten Reaktion mit Sauerstoff das Auftreten einer Eigenschaft, die ihr in ihrer älteren, vorwiegend am SCHARDINGER-Enzym entwickelten Form eigentlich unbekannt war, nämlich die der *Acceptorspezifität*; denn früher war im allgemeinen nur die *Substrat-* oder *Donatorspezifität* dieser Enzyme betont worden. Spätere Versuche WIELANDS (1932/33), bei denen mit verfeinerter Methodik teils am SCHARDINGER-Enzym (34), (38), teils an Bakteriendehydrasen (39)[1]) verschiedene Acceptoren vergleichend geprüft wurden, zeigten eine viel allgemeinere Verbreitung dieser Erscheinung, als ur-

[1]) Vgl. auch die Arbeit des WIELAND-Schülers A. BERTHO, Liebigs Ann. 474, 1 (1929).

sprünglich angenommen worden war. Sie wird nach WIELAND am besten durch die Annahme erklärt, daß im Mittelpunkt des Reaktionsgeschehens eine *ternäre Additionsverbindung* Donator—Enzym—Acceptor steht, deren spezifische Bildungs- und Zerfallsgeschwindigkeiten das quantitative Bild der Kinetik charakterisieren (38). Besonders instruktiv ist in dieser Hinsicht das Verhalten der neuerdings als „gelbe Fermente" erkannten Dehydrasen, bei denen wir in der Reihe Diaphorase—SCHARDINGER-Enzym—Glucose-aerodehydrase—Aminosäuredehydrase einen lückenlosen Übergang vom rein anoxytropen über den gemischt oxytrop-anoxytropen zum rein oxytropen Typus finden.

Es scheint, daß in den letzten Jahren auf dem Gebiete der biologischen Oxydation nach einer ausgesprochenen Kampfperiode eine gewisse Beruhigung und Klärung eingetreten ist. Im Prinzip auch von den ehemaligen Gegnern anerkannt — wenn auch bisweilen betont abweichend formuliert —, beherrscht WIELANDS Grundidee von der substratspezifischen Wasserstoffaktivierung das weite Feld der Atmungs- und Gärungsprozesse, für den ersteren Fall allerdings dahin modifiziert, daß autoxydable und in diesem Sinne „sauerstoffaktivierende" Mechanismen bei der Reoxydation von Zwischenkatalysatoren eine wichtige *zusätzliche* Funktion ausüben können. Neue Probleme treten in den Vordergrund, die bei der bisherigen vorzugsweisen Behandlung von Fragen des enzymatischen Reaktionsmechanismus vernachlässigt worden waren, so vor allem die Frage nach dem *Chemismus* enzymatischer Dehydrierungsfolgen, die denn auch in den neueren Arbeiten WIELANDS einen breiten Raum einnimmt.

VII.

Grundsätzlich wichtig, wenn auch das experimentelle Studium solcher Vorgänge sehr erschwerend, war die Feststellung, daß dem *„Anregungszustand"* der bei Enzymreaktionen entstehenden Moleküle besondere Beachtung zu schenken ist

$$HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH \xrightarrow{-2H} HOOC \cdot CH : CH \cdot COOH \xrightarrow{+H_2O} HOOC \cdot CH_2 \cdot CHOH \cdot COOH$$
$$\xrightarrow{-2H} HOOC \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH \xrightarrow{-CO_2} CH_3 \cdot CO \cdot COOH \xrightarrow{-CO_2} CH_3 \cdot CHO \xrightarrow{+H_2O}$$
$$CH_3 \cdot CH(OH)_2 \xrightarrow{-2H} CH_3 \cdot COOH \xrightarrow{-H} {}^1/_2\, HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH \text{ usw.}$$

und daß darum die Methode der klassischen Chemie, durch Untersuchung des Verhaltens mutmaßlicher Zwischenprodukte den Verlauf einer Stufenreaktion aufzuklären, in der Enzymchemie nur mit Vorbehalt anzuwenden ist (38).

Die erste in die angeführte Richtung gehende Beobachtung wurde bei der *Essiggärung* (1928) gemacht, wo der O_2-Umsatz in gleichen Zeiten für Alkohol und Aldehyd, jeder für sich allein als Substrat angewandt, der Größe nach ungefähr gleich ist, während die Dehydrierungsgeschwindigkeit *intermediär gebildeten* Aldehyds rund 5mal größer ist (31). Zwei Jahre später wurde gefunden, daß das in der aeroben Reaktion des SCHARDINGER-Enzyms entstehende Hydroperoxyd etwa 15mal stärker schädigend wirkt als von außen zugefügtes (27).

Die meisten folgenden enzymatisch-präparativen Untersuchungen WIELANDS wurden mit sog. „verarmter", d. h. durch vielstündiges Schütteln unter Sauerstoff von ihren oxydablen Inhaltstoffen weitgehend befreiter *Hefe*[1]) ausgeführt, die infolge ihrer geringen Eigenatmung bei erhaltenem hohen Dehydrierungsvermögen ein ausgezeichnetes, QUASTELS „ruhenden Bakterien" entsprechendes, aber leichter zu beschaffendes Enzymmaterial darstellt. Freilich enthält die intakte Zelle eine Vielzahl verschiedener Abbauenzyme, so daß es im allgemeinen nicht gelingt, eine bestimmte Dehydrierungsreaktion rein herauszuschälen. Die systematische quantitative Aufarbeitung der Versuchsansätze auf Reaktionsprodukte erlaubt jedoch meistens die Aufstellung von *Bilanzen*, aus denen sich der Reaktionsweg des Ausgangsmaterials mit einiger Sicherheit rekonstruieren läßt.

Ein wichtiges Problem, das mit dieser neueren kinetisch-präparativen Methodik angegangen wurde, war die Frage nach dem enzymatischen Abbau der *Essigsäure*. Wohl hatte THUNBERG[2]) schon 1920 den plausiblen Reaktionsweg einer bimolekularen Dehydrierung zu Bernsteinsäure

$$\begin{matrix} CH_3 \cdot COOH \\ CH_3 \cdot COOH \end{matrix} \xrightarrow{-2H} \begin{matrix} CH_2 \cdot COOH \\ | \\ CH_2 \cdot COOH \end{matrix}$$

angegeben, allein für diese Hypothese sprachen einstweilen nur vieltägige, an Acetatlösungen mit Schimmelpilzmycelien durchgeführte Inkubationsversuche[3]). WIELAND (40) zeigte als erster (1932) in kurz dauernden Versuchen mit verarmter Hefe, also unter Bedingungen, die denen wahrer Enzymversuche schon wesentlich mehr angenähert waren, die Bildung von Bernsteinsäure (bis zu 10% der verbrauchten Essigsäure) bei aerober Acetatdehydrierung. Damit schien das letzte noch fehlende Glied einer geschlossenen Kette von Dehydrierungsreaktionen gefunden, die heute häufig als ein gut belegtes Schulbeispiel für die Wirkungsweise der Dehydrasen im Gesamtkomplex der Desmolyse zitiert wird:

Auch in diesem Falle führt WIELAND die Tatsache, daß nur etwa $^1/_{20}$, nicht $^2/_3$ des eingesetzten Substrats, wie sich dies nach dem zahlenmäßigen Vergleich der Reaktionsgeschwindigkeiten zugesetzten Acetats bzw. Succinats erwarten ließ, als Bernsteinsäure wiedergefunden wird, auf den aktivierten Zustand des primären Dehydrierungsprodukts zurück[4]).

---

[1]) Näheres bei R. SONDERHOFF, Erg. Enzymforsch. 3, 163 (1934).

[2]) Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) 40, 1 (1920).

[3]) W. S. BUTKEWITSCH u. FEDOROFF, Biochem. Z. 207, 302 (1929); 219, 87 (1930).

[4]) WIELANDS Befunde konnten kürzlich auch für Bakterien bestätigt werden [W. FRANKE u. RUDLOFF, Biochem. Z. 310, 207 (1942)]. Nach neueren Erkennt-

Bei dieser Gelegenheit sei ein eigenartiger Befund aus letzter Zeit (1938) erwähnt, wonach Hefe durch Dehydrierung minimaler *Alkohol*mengen — z. B. in der Konzentration von $^{m}/_{10000}$ — die Fähigkeit erlangt, *Acetat* mit viel größerer Anfangsgeschwindigkeit zu dehydrieren als ohne diese Vorbehandlung (41). WIELAND erklärt dies so, daß es die bei der Dehydrierung des Alkohols intermediär gebildete Essigsäure sei, die den Zustand des Enzyms zur Reaktionsbereitschaft hin umschalte, eine Wirkung, die von vorneherein der Hefe zugefügtes Acetat erst nach einiger Zeit hervorzubringen vermag.

Eine besondere Bedeutung mag dem „status nascendi" bei der *Synthese* von Zellstoffen zukommen. So fand WIELAND in der schon zitierten Untersuchung (40) vom Jahre 1932, daß bei der Acetatveratmung durch Hefe in einer der Bernsteinsäure erheblich überlegenen Menge auch *Citronensäure* gebildet wird, was als Aldolkondensation enzymatisch aktivierter Oxalessigsäure — die ja in der obigen Abbaureihe ebenfalls vorkommt — mit Essigsäure gedeutet wird:

$$\begin{matrix} HOOC\cdot CO \\ | \\ HOOC\cdot CH_2 \end{matrix} + CH_3\cdot COOH = \begin{matrix} HOOC\cdot C(OH)\cdot CH_2\cdot COOH \\ | \\ HOOC\cdot CH_2 \end{matrix}.$$

[Vgl. auch die verwandten Vorstellungen von KREBS[1]) bzw. KNOOP und MARTIUS[2]), Abschn. V.]

Im Zusammenhang mit diesen Untersuchungen stehen solche der letzten Jahre, die sich mit der anaeroben *Vergärung organischer Säuren*, wie *Citronensäure* (42), (43), *Oxalessigsäure*, *Äpfelsäure* und *Fumarsäure* (44) durch *Bakterien* der Aerogenesgruppe[3]) beschäftigen. Interessant ist dabei das Auftreten von *Disproportionierungs*reaktionen, wie sie sonst im allgemeinen nur an Kohlehydratabbauprodukten von Aldehyd- oder Ketonnatur beobachtet worden sind. So entsteht aus den beiden letztgenannten Säuren einerseits das Hydrierungsprodukt *Bernsteinsäure*, andererseits das Dehydrierungsprodukt *Oxalessigsäure*, welch letztere wiederum in zwei Richtungen weiterreagieren kann, einmal nach doppelseitiger Decarboxylierung zu Acetaldehyd unter Dismutation zu Alkohol und Essigsäure, das andere Mal unter halbseitiger Decarboxylierung und „hydroklastischer" Spaltung zu CO_2, Ameisensäure und Essigsäure. Beachtlicherweise verhält sich *Citronensäure* quantitativ genau wie ein äquimolekulares Gemisch aus Oxalessigsäure + Essigsäure, so daß also der Abbau der Tricarbonsäure durch Bakterien — anders als durch die höhere Zelle — über eine primäre Desaldolisierung erfolgt[1]).

Die wichtige Rolle, welche der *Oxalessigsäure* im C_4-Dicarbonsäurecyclus v. SZENT-GYÖRGYIS[2]) (Abschn. V) zukommt, veranlaßte WIELAND (45) später (1939) zur quantitativen Nachprüfung des Verhaltens dieser Säure im Muskelgewebe. Sein Befund, daß die Säure vorwiegend (halbseitig) decarboxyliert und nur untergeordnet als H-Acceptor für zelleigne Donatoren verwertet wird, bedeutet keine Stütze für die Formulierungen des ungarischen Autors. Die gleichzeitig erfolgte Nachprüfung des Zellverhaltens der anderen physiologisch hochbedeutsamen Ketosäure, der *Brenztraubensäure*, ergab, daß auch in *Hefe* neben der für sie typischen carboxylatischen Spaltung zu $CH_3\cdot CHO + CO_2$ die für *tierische* Gewebe charakteristische Disproportionierung zu Milchsäure und Essigsäure + CO_2 vorkommt.

Die vorliegende kurze Zusammenstellung WIELANDscher biochemischer Arbeiten erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Insbesondere mußte dabei eine Reihe von Untersuchungen, die sich vorwiegend mit der Dehydrierung des Alkohols und verschiedener C_2-Körper des Kohlehydratabbaus durch Hefe befassen (45), (46), (47), (48), (50), unerwähnt bleiben. Als ein wichtiges Teilergebnis sei wenigstens angeführt, daß bei der Dehydrierung von Alkohol durch Hefe unter den von WIELAND gewählten Bedingungen die sog. „MEYERHOF-Reaktion", d. h. die enge Korrelation zwischen oxydativem Abbau und Resynthese, keine wesentliche Rolle spielt (50). Der geringe zu beobachtende Stoffaufbau bezieht sich zudem ganz überwiegend auf *Fett*, nicht auf Kohlehydrat.

VIII.

Wenn wir in diesem Jahre, das uns den 30. Geburtstag der Dehydrierungstheorie und zugleich den 65. ihres geistigen Vaters bringt, Rückschau halten, dann will es uns fast erscheinen, als habe dieser vielleicht genialste Sprößling H. WIELANDS heute schon mehr geleistet, als man an seiner Wiege auch bei größtem Optimismus füglich hatte von ihm erwarten können. Leicht ist es ihm bestimmt nicht gemacht worden sich durchzusetzen, es war ein harter Kampf, am ermüdendsten vielleicht in den späteren Phasen, wo es nach dem Willen der Gegner oft weniger mehr um Inhalte als um Worte und Formulierungen ging. Hätte WIELAND nichts anderes geschaffen als seine Dehydrierungstheorie, sein Name würde schon heute als der eines bahnbrechenden physiologischen Chemikers ins Buch der Wissenschaftsgeschichte eingehen. Aber WIELAND selbst hat sich ja zeitlebens weniger als physiologischer denn als organischer Chemiker gefühlt. Wo das Schwergewicht seiner Leistungen

nissen muß man bei ihrer Deutung allerdings auch die Möglichkeit einer ungleichen Zellpermeabilität für Essig- bzw. Bernsteinsäure berücksichtigen. Nach Versuchen mit $CD_3\cdot COOH$ [R. SONDERHOFF u. THOMAS, Liebigs Ann. **530**, 195 (1937)] nehmen übrigens F. LYNEN u. NECIULLAH [Liebigs Ann. **541**, 203 (1939)] neuerdings den Essigsäureabbau in der Hefe teils über Bernsteinsäure, teils über Citronensäure (vgl. Abschn. V) erfolgend an.

[1]) Enzymol. **4**, 148 (1937) — Biochemic. J. **34**, 442, 460 (1940).

[2]) Hoppe-Seylers Z. **242**, 1 (1936).

[3]) M. DEFFNER u. FRANKE, Liebigs Ann. **541**, 85 (1939).

[1]) M. DEFFNER, Liebigs Ann. **536**, 44 (1938); vgl. auch nebenstehende Fußnote 3.

[2]) Vgl. Zusammenfassung A. v. SZENT-GYÖRGYIS, Studies an biological oxidation and some of its catalysts (Leipzig 1937).

— vom Standpunkt des Fortschritts der Wissenschaft — wirklich lag, das wird wohl erst die Nachwelt richtig beurteilen können.

Vor rund einem Jahrhundert haben BERZELIUS und LIEBIG die organische Chemie als systematische Wissenschaft begründet. Für sie war die organische Chemie noch die Chemie der Pflanzen- und Tierwelt in ihrer Statik und Dynamik, waren organische und Biochemie noch eine Einheit. Diese Einheit ist in der weiteren Entwicklung der chemischen Wissenschaft im 19. Jahrhundert verlorengegangen. Die Chemiker wandten sich von der belebten Natur ab und meist reinen Strukturfragen zu, die Biochemie überließen sie den Physiologen. Erst die letzten Jahrzehnte haben hier Wandel geschaffen und die beiden lange getrennt marschierenden Disziplinen derselben Wissenschaft einander wieder nähergebracht. WIELANDS Stellung in der modernen Chemie aber ist durch nichts besser gekennzeichnet als durch die Tatsache, daß in ihm wie nur bei ganz wenigen Forschern unserer Zeit — der Hinweis auf Münchens bedeutsamen quantitativen Anteil werde nicht als Lokalpatriotismus gewertet — die erneute Synthese von organisch-chemischem und biochemischem Denken sichtbaren Ausdruck gefunden hat.

Verzeichnis Wielandscher Arbeiten (Auszug).

(1) WIELAND, Ber. dtsch. chem. Ges. **45**, 484 (1912). — (2) WIELAND, Ber. dtsch. chem. Ges. **45**, 2606 (1912). — (3) WIELAND, Ber. dtsch. chem. Ges. **45**, 679 (1912). — (4) WIELAND, Ber. dtsch. chem. Ges. **45**, 685 (1912). — (5) WIELAND u. WINGLER, Liebigs Ann. **434**, 185 (1923). — (6) WIELAND u. WINGLER, Liebigs Ann. **431**, 301 (1923). — (7) WIELAND u. FISCHER, Ber. dtsch. chem. Ges. **59**, 2860 (1926). — (8) WIELAND, Ber. dtsch. chem. Ges. **54**, 2353 (1921). — (9) WIELAND, Ber. dtsch. chem. Ges. **47**, 2109 (1914). — (10) WIELAND u. RICHTER, Liebigs Ann. **486**, 226 (1931). — (11) WIELAND u. RICHTER, Liebigs Ann. **495**, 284 (1932). — (12) WIELAND u. BERGEL, Liebigs Ann. **439**, 196 (1924). — (13) WIELAND u. BOSSERT, Liebigs Ann. **509**, 1 (1934). — (13a) WIELAND, DRISHAUS u. KOSCHARA, Liebigs Ann. **513**, 203 (1934). — (14) WIELAND u. FRANKE, Liebigs Ann. **457**, 1 (1927). — (15) WIELAND u. FRANKE, Liebigs Ann. **464**, 101 (1928). — (16) WIELAND u. FRANKE, Liebigs Ann. **469**, 257 (1929). — (17) WIELAND u. FRANKE, Liebigs Ann. **473**, 289 (1929). — (18) WIELAND u. FRANKE, Liebigs Ann. **475**, 1 (1929). — (19) WIELAND u. FRANKE, Liebigs Ann. **475**, 19 (1929). — (20) WIELAND u. ZILG, Liebigs Ann. **530**, 257 (1937). — (21) WIELAND u. LÖVENSKIOLD, Liebigs Ann. **436**, 241 (1924). — (22) WIELAND u. LÖVENSKIOLD, Liebigs Ann. **445**, 198 (1925). — (23) WIELAND u. CHROMETZKA, Ber. dtsch. chem. Ges. **63**, 1028 (1930). — (24) WIELAND, Ber. dtsch. chem. Ges. **46**, 3327 (1913). — (25) WIELAND, Ber. dtsch. chem. Ges. **47**, 2085 (1914). — (26) WIELAND u. ROSENFELD, Liebigs Ann. **477**, 32 (1929). — (27) WIELAND u. MACRAE, Liebigs Ann. **483**, 217 (1930). — (28) WIELAND, Ber. dtsch. chem. Ges. **55**, 3639 (1922). — (29) WIELAND, Erg. Physiol. **20**, 477 (1922). — (30) WIELAND, Handb. d. Biochem. **2**, 252 (Jena 1923). — (30a) WIELAND u. PISTOR, Liebigs Ann. **522**, 116 (1936). — (30b) WIELAND u. PISTOR, Liebigs Ann. **535**, 205 (1938). — (31) WIELAND u. BERTHO, Liebigs Ann. **467**, 95 (1928). — (32) WIELAND u. FRAGE, Liebigs Ann. **477**, 1 (1930). — (33) WIELAND u. LAWSON, Liebigs Ann. **485**, 193 (1931). — (34) WIELAND u. MITCHELL, Liebigs Ann. **492**, 156 (1932). — (35) WIELAND, Z. angew. Chem. **44**, 579 (1931). — (36) WIELAND u. SUTTER, Ber. dtsch. chem. Ges. **61**, 1060 (1928). — (37) WIELAND u. SUTTER, Ber. dtsch. chem. Ges. **63**, 66 (1930). — (38) WIELAND, Helvet. chim. Acta **15**, 521 (1932). — (39) WIELAND u. SEVAG, Liebigs Ann. **501**, 151 (1933). — (40) WIELAND u. SONDERHOFF, Liebigs Ann. **499**, 213 (1932). — (41) WIELAND, PROBST u. CRAWFORD, Liebigs Ann. **536**, 51 (1938). — (42) WIELAND u. SONDERHOFF, Liebigs Ann. **503**, 61 (1933). — (43) WIELAND u. SONDERHOFF, Liebigs Ann. **520**, 150 (1935). — (44) WIELAND, CRAWFORD u. WALCH, Liebigs Ann. **525**, 119 (1936). — (45) WIELAND, PROBST, WALCH, SCHWARZE u. RAUCH, Liebigs Ann. **542**, 145 (1939). — (46) WIELAND u. CLAREN, Liebigs Ann. **492**, 183 (1932). — (47) WIELAND, CLAREN u. PRAMANIK, Liebigs Ann. **507**, 203 (1933). — (48) WIELAND u. CLAREN, Liebigs Ann. **509**, 183 (1934). — (49) WIELAND u. WILLE, Liebigs Ann. **503**, 70 (1933). — (50) WIELAND u. WILLE, Liebigs Ann. **515**, 260 (1935).

Neuere zusammenfassende Vorträge: (51) WIELAND, Über den Verlauf der Oxydationsvorgänge (Stuttgart 1933). — (52) WIELAND, L'oxydation par l'oxygène moléculaire, 5e Conseil de Chimie Solvay (Paris 1935). — (53) WIELAND, Le principe de la migration de l'hydrogène. Bull. Soc. chim. **5**, 1233 (1938).

Die Stickstoffarbeiten von H. Wieland.

Von FRIEDRICH KLAGES, München.

Die Liebe zum Stickstoff wurde in H. WIELAND von seinem Lehrer JOHANNES THIELE erweckt. Besonders am Anfang seiner Forscherlaufbahn haben ihn die Bindungsmöglichkeiten dieses nach dem Kohlenstoff wohl vielseitigsten Elementes derart gefesselt, daß von den Nitroverbindungen bis zu den Aminen und von diesen wieder bis zum N-Oxytetrazol mit 5 aneinander geketteten Heteroatomen wohl kaum ein Stickstoffderivat existiert, mit dem er sich nicht wenigstens in einer Arbeit näher beschäftigt hat. Im ganzen befaßten sich bis zum Jahre 1922 mit der organischen Chemie des Stickstoffs mehr als 80% seiner Veröffentlichungen, in denen die einzelnen Probleme so erschöpfend behandelt wurden, daß die erzielten Ergebnisse größtenteils auch heute noch als endgültig angesehen werden können.

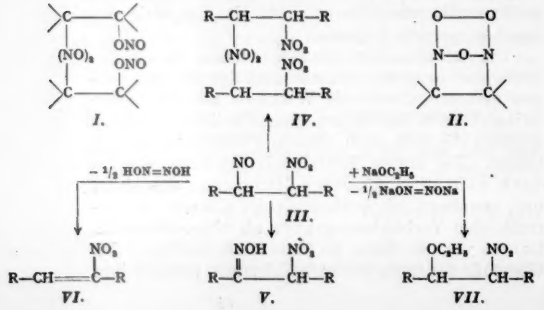
Die Art seines Vorgehens war immer die gleiche. Stets sind es kleine, oft nur zufällige Beobachtungen gewesen, durch die WIELAND mit einem Arbeitsgebiet in Berührung kam, die ihn aber auch sogleich die hier noch offenen Probleme erkennen ließen. Die ersten Einzelbeobachtungen wurden dann nach allen möglichen Richtungen ausgebaut und erweitert, bis schließlich die Chemie der betreffenden Verbindungsgruppe als abgeschlossenes Ganzes vor uns liegt. So kommt es, daß trotz der Überfülle des in 90 Veröffentlichungen behandelten

Materials dieses zu nur wenigen größeren Arbeitsgruppen zusammengefaßt werden kann, und zwar 1. Die Additions- und Substitutionsreaktionen, 2. Die Hydrazine und freien Stickstoffradikale und 3. Die Darstellung und Polymerisation der Knallsäure, denen vier kleinere Randgebiete mehr oder weniger eng angegliedert werden können: 4. Der Verlauf der Grignard-Reaktion bei Nitrosoverbindungen, 5. Die Nitriloxyde und Furoxane, 6. Hydroxamsäurederivate und ihre Umwandlungsprodukte, und schließlich 7. Die Einwirkung von Stickoxyd auf Alkoholate.

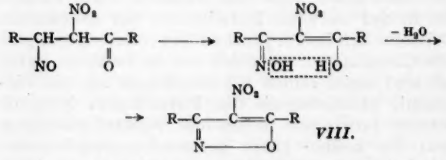
1. Additions- und Substitutionsreaktionen.

Schon in seinen ersten selbständigen Arbeiten befaßte sich WIELAND mit Problemen der Stickstoffchemie, und zwar mit der Addition von Stickoxyden an Olefine. Hier herrschte bis dahin ein ziemliches Durcheinander der Meinungen, und man glaubte, daß neben den aus den aliphatischen Olefinen und N_2O_3 entstehenden bimolekularen Nitrositen (= Nitrosonitriten I) in der aromatischen Reihe auch Additionsprodukte entstehen, die den Glyoximen nahestehen, und für die ANGELI die Peroxydformel II vorschlug.

WIELAND konnte nun in mehreren, sich über einen längeren Zeitraum erstreckenden Arbeiten zeigen, daß alle bisherigen Formulierungen falsch sind und daß es z. B. echte Nitrosite überhaupt nicht gibt. Bei der Addition von N_2O_3 an Olefine wird vielmehr stets auf beiden Seiten der Stickstoff direkt an den Kohlenstoff gebunden unter Bildung der Nitroso-nitroverbindung III, die sich im allgemeinen zu der I analogen, eine bimolekulare Nitrosogruppe enthaltenden Verbindung IV dimerisiert, für die WIELAND wegen dieser Analogie die Bezeichnung Pseudonitrosite vorschlug (3). In der aliphatischen Reihe ist die Nitrogruppe allerdings sehr labil und wird leicht als HNO_2 herausgespalten, worauf hauptsächlich die ursprüngliche Formulierung als Salpetersäure-ester zurückzuführen ist (75), (76). In der aromatischen Reihe haftet sie jedoch fester, und es treten andere Reaktionen in den Vordergrund. So kann man z. B. III in die vom ω-Nitroacetophenon abgeleitete Isonitrosoverbindung V überführen (3), oder es läßt sich die NO-Gruppe mit benachbartem Wasserstoff (zu VI) oder alkoholytisch (zu VII) als untersalpetrige Säure herausspalten (3), (4):

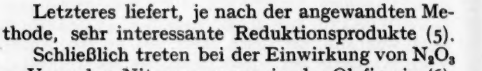


Ein weiterer Reaktionstyp tritt bei gleichzeitiger Konjugation der olefinischen Doppelbindung mit Carbonyl- und Arylgruppen, also mit negativen Substituenten, auf: Hier geht die primär entstehende Additionsverbindung nicht mehr in das Pseudonitrosit über, sondern es erfolgt sofort Ringschluß unter Wasserabspaltung zu dem Isoxazolderivat VIII (1), (7):



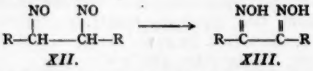
Durch Einführung positiver Gruppen (z. B. OCH_3) in den Kern kann das Existenzgebiet der Pseudonitrosite etwas erweitert werden (12).

Außer N_2O_3 lagert sich auch N_2O_4 an Olefine zu den meist sehr unbeständigen Dinitrüren (X) an, die sehr leicht wieder HNO_2 zum Nitroderivat des ursprünglichen Olefins (XI) herausspalten (1):



Letzteres liefert, je nach der angewandten Methode, sehr interessante Reduktionsprodukte (5).

Schließlich treten bei der Einwirkung von N_2O_3 u. U. auch 2 Nitrosogruppen in das Olefin ein (6), doch lagert sich die primär entstehende Bisnitrosoverbindung XII sofort in das entsprechende Glyoxim (XIII) um:

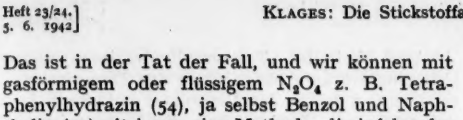


Die NO-Addition geht allerdings nicht bei direkter Einwirkung des reaktionsträgen Stickoxyds vor sich, sondern erfolgt nur in geringem Ausmaß als Nebenreaktion bei der Einwirkung von N_2O_3.

Wie auch bei anderen Additionsreaktionen findet an konjugierte Doppelbindungen 1,4 Addition statt (25), ebenso beim Übergang zu Acetylenderivaten normale Addition der Stickoxyde unter Bildung von disubstituierten Olefinen bzw. von deren Umwandlungsprodukten (74), (77).

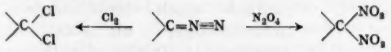
Aus der bei all diesen Reaktionen erfolgenden ausschließlichen Bildung von C—N-Bindungen zog WIELAND den Schluß, daß beide dimeren Stickoxyde eine direkte N—N-Bindung im Sinne der auch heute noch allgemein anerkannten Konstitutionsformeln: ON—NO_2 und O_2N—NO_2 enthalten (7). Sie sind in dieser Form am ehesten vergleichbar mit den freien Halogenen, eine Analogie, der wir immer wieder begegnen. So entspricht z. B. die erwähnte Bildung von Nitro-olefinen über die Dinitrüre (IX—XI) vollständig der üblichen Formulierung der aromatischen Kernhalogenierung, d. h. N_2O_4 sollte ein gutes Nitrierungsmittel für aromatische Kohlenwasserstoffe darstellen.

Das ist in der Tat der Fall, und wir können mit gasförmigem oder flüssigem N_2O_4 z. B. Tetraphenylhydrazin (54), ja selbst Benzol und Naphthalin (79) nitrieren, eine Methode, die infolge der Einsparung konzentrierter Salpetersäure in neuerer Zeit auch in der Technik immer mehr Eingang findet. N_2O_3 kann in analoger Weise sowohl als Nitrierungs- (III → VI), als auch als Nitrosierungsmittel dienen. Letztere Möglichkeit ist z. B. bei den leicht substituierbaren 1,3-Diketonen verwirklicht (7)(8):

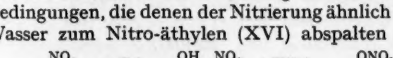


Als Nebenprodukt entsteht bei dieser Reaktion eigenartigerweise auch ein Diazokörper (10), (14).

Eine weitere Analogie zu den Halogenen zeigt N_2O_4 bei der Umsetzung mit aliphatischen Diazoverbindungen (58), wie aus folgendem Reaktionsbild hervorgeht:



In einer letzten Untersuchungsreihe wurde schließlich noch versucht, die übliche Vorstellung des Verlaufes aromatischer Kernnitrierungen mit Salpeter-Schwefelsäure durch Modellversuche an Olefinen zu belegen. Hier konnte WIELAND zeigen, daß die Salpetersäure unter den Nitrierungsbedingungen tatsächlich imstande ist, sich an Olefine mit den Bruchstücken $-NO_2$ und $-OH$ unter Bildung von β-Nitro-alkoholen (XIV) anzulagern. Letztere sind allerdings nur in wenigen Fällen direkt faßbar (78), sondern werden meistens sofort zum Nitrat (XV) verestert und dadurch gegen die wasserabspaltende Wirkung des Reaktionsmediums stabilisiert (69). Der auf anderem Wege hergestellte freie β-Nitro-äthylalkohol zeigt schließlich auch die zweite Teilreaktion der Nitrierung und kann unter Bedingungen, die denen der Nitrierung ähnlich sind, Wasser zum Nitro-äthylen (XVI) abspalten (68):

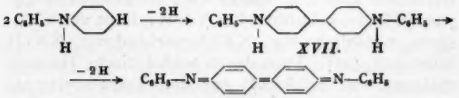


XVI. *XIV.* *XV.*

Das bei dieser Gelegenheit erstmals hergestellte Nitro-äthylen interessierte vor allem als Grundkörper der Reihe und zeigt nahe Verwandtschaft zu dem ähnlich gebauten Acrolein, insbesondere hinsichtlich seiner Polymerisations- und Reizeigenschaften.

2. Hydrazine und freie Stickstoffradikale.

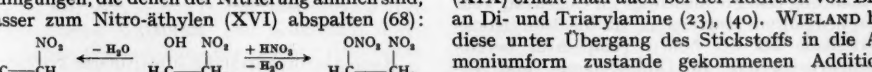
Zum erstenmal begegnete WIELAND den Tetraarylhydrazinen bei dem Versuch, die blaue Farbreaktion aufzuklären, die Diphenylamin mit Oxydationsmitteln in konzentrierter Schwefelsäure zeigt. Allerdings stellte sich gerade bei dieser Reaktion letzten Endes heraus, daß sie nicht, wie ursprünglich angenommen (15), (46), über das Tetraphenylhydrazin verläuft, sondern daß in der stark sauren Lösung der p-ständige Wasserstoff des einen Benzolkerns im Diphenylamin direkt unter Bildung von Diphenylbenzidin (XVII) herausoxydiert wird. Letzteres geht dann unter weiterer Oxydation in die chinoide Verbindung XVIII über, deren di-schwefelsaures Salz den eigentlichen Farbstoff darstellt (59), (66):



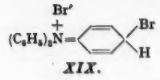
XVII. *XVIII.*

Auch Diphenylhydroxylamin (60) und verwandte Substanzen (17), die bei der Spaltung von Tetra-arylhydrazinen auftreten, zeigen die gleiche Reaktion. Dagegen erfolgt die ebenfalls unter Blaufärbung vor sich gehende Oxydation des as-Diphenylhydrazins nach einem anderen Mechanismus (43).

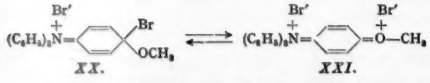
In indifferentem Medium greift die Oxydation des Diphenylamins jedoch primär am Stickstoff an, und es entstehen die Tetra-arylhydrazine (15), die eine Reihe interessanter Umwandlungen erleiden. So wurde u. a. bei der Einwirkung von wasserfreier Salzsäure in Äther das Auftreten einer schnell wieder verschwindenden Färbung beobachtet, die bei den nicht zur Benzidinumlagerung befähigten p-substituierten Verbindungen relativ beständig war und näher untersucht wurde. Sie wird außer durch wasserfreie Säuren auch durch komplexbildende Polyhalogenide ($FeCl_3$, $SnCl_4$, PCl_5, $SbCl_5$) hervorgerufen und kommt durch eine chinolartige Addition dieser Verbindungen an einem der Benzolkerne zustande (23):



Ähnliche chinolartige farbige Additionsprodukte (XIX) erhält man auch bei der Addition von Brom an Di- und Triarylamine (23), (40). WIELAND hält diese unter Übergang des Stickstoffs in die Ammoniumform zustande gekommenen Additionsverbindungen für eine Vorstufe der Bromierung aromatischer Amine und kommt damit, wenn man nur seine Formeln in der modernen Elektronenschreibweise formuliert, schon im Jahre 1910 zu der heute üblichen Deutung dieser Vorgänge, nach der sich ebenfalls das am Stickstoff befindliche ungebundene Elektronenpaar intermediär an der Substitutionsreaktion beteiligt. Bei den Derivaten des Anisidins (XX) sind infolge des hier möglichen Übergangs des Sauerstoffs in die Oniumform und damit der Bildung echter chinoider Salze (XXI) diese Färbungen beständiger (41):

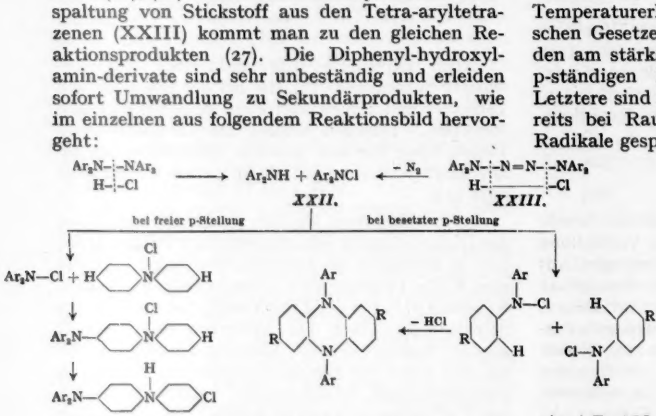


XIX.



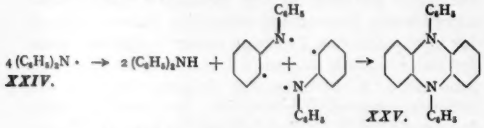
XX. *XXI.*

Bei längerer Einwirkung der Säuren auf die Tetra-arylhydrazine verschwindet jedoch die Färbung wieder, und es tritt acidolytische Spaltung der N—N-Bindung ein, die auf der einen Seite stets zum Diarylamin, auf der anderen Seite zu Derivaten des erst später (50) dargestellten Diphenyl-hydroxylamins (bei Verwendung von Salzsäure natürlich zur N-Chlorverbindung XXII) führt (26), (28). Auch durch acidolytische Herausspaltung von Stickstoff aus den Tetra-aryltetrazenen (XXIII) kommt man zu den gleichen Reaktionsprodukten (27). Die Diphenyl-hydroxylamin-derivate sind sehr unbeständig und erleiden sofort Umwandlung zu Sekundärprodukten, wie im einzelnen aus folgendem Reaktionsbild hervorgeht:



XXII. *XXIII.*

Die bekannteste Reaktion der Tetra-arylhydrazine, die Aufspaltung in freie Diarylstickstoffradikale (XXIV), entdeckte WIELAND erst relativ spät. Im Jahre 1911 wurde erstmals beobachtet, daß Tetraphenylhydrazin in siedendem Xylol unter Bildung farbiger, sich schnell weiter verändernder Produkte zerfällt, die durch Abfangreaktionen mit NO und Triphenylmethyl [mit letzterem treten allerdings unter Umständen auch sekundäre Reaktionsprodukte auf (67)] eindeutig als freie Radikale erkennbar waren (45). Die Spaltung erfolgte allerdings im Gegensatz zum Hexaphenyläthan irreversibel, da die Diarylstickstoffradikale bei der hohen Temperatur bereits Disproportionierung zu Diphenylamin und Diphenyl-dihydro-phenazin (XXV), also ähnlich wie bei der Säurespaltung, erleiden:

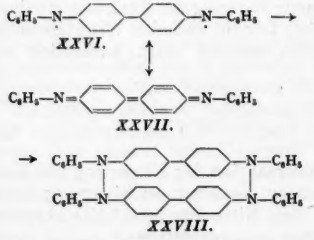


XXIV. *XXV.*

Lediglich in flüssiger Luft unter der Anregung von Kathodenstrahlen erfolgt die Radikalspaltung des Tetraphenylhydrazins reversibel.

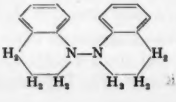
Auch bei den Tetra-arylhydrazinen zeigte sich eine starke Abhängigkeit der Dissoziationstendenz von den an den Benzolkernen befindlichen Substituenten. Doch stehen die Verhältnisse in einem gewissen Gegensatz zu den beim Hexaphenyläthan beobachteten. So setzen negative Reste, vor allem p-ständige Nitrogruppen (51), (54), aber auch schon der Übergang von der Phenyl- zur Biphenylreihe (47) die Spaltbarkeit der Hydrazine stark herab. Positive Substituenten dagegen erhöhen die Dissoziationsneigung, und zwar von der noch ziemlich schwach wirkenden o- und p-Tolylgruppe (52), (53) über die p-Methoxyverbindungen (53), (56), bei denen sich die Radikalspaltung schon bei niedriger Temperatur durch die üblichen Reaktionen, wie reversible Farbvertiefung bei Temperaturerhöhung, Nichterfüllung des BEERschen Gesetzes usw. (57), nachweisen ließ, bis zu den am stärksten dissoziierten Verbindungen mit p-ständigen Dimethylaminogruppen (62), (71). Letztere sind in Nitrobenzol als Lösungsmittel bereits bei Raumtemperatur bis zu 21% in freie Radikale gespalten, doch sind die Diarylstickstoffradikale auch dann noch viel unbeständiger als die entsprechenden Triphenylmethylradikale.

Als letzte interessante Verbindung dieser Gruppe konnte schließlich noch ein Diradikal vom Benzidintypus (XXVI) dargestellt werden, das trotz der an sich naheliegenderen Konstitution eines Diphenonchinon-imins (XXVII) einige echte Radikalreaktionen zeigt, wie z. B. NO-Addition und Dimerisation zum Dihydrazin XXVIII (81):



XXVI. *XXVII.* *XXVIII.*

Auch das unvollständig substituierte Triphenylhydrazin (64) und gemischt aromatische Hydrazine zeigen noch eine geringe Dissoziationsneigung, und zwar sind die symmetrischen Dialkyldiarylhydrazine (51) stärker dissoziiert als die asymmetrischen (72). Sehr gering ist das Spaltungsvermögen bei den Hydrazinen der Tetrahydrochinolinreihe (XXIX) (73), um schließlich trotz

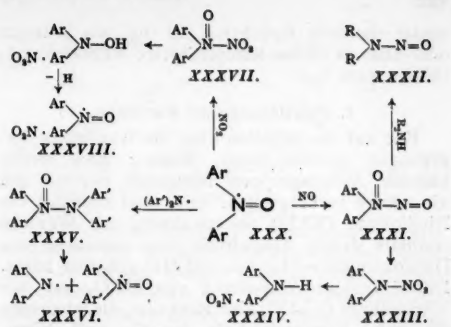


XXIX.

der stark positiven (basischen) Natur bei den am Stickstoff aliphatisch substituierten Verbindungen, den Ketazinen (48) und dem Tetrabenzylhydrazin (72), gänzlich zu verschwinden. Letzteres erwies sich auch in anderer Beziehung als sehr beständig und zeigte z. B. gegenüber Salzsäure bis 260° keinerlei Tendenz zur acidolytischen Aufspaltung der N—N-Bindung, sondern es wurden lediglich die 4 Benzylreste abgespalten. Versuche zur Darstellung weiterer, rein aliphatischer Tetraalkylhydrazine führten dagegen nicht zum Ziel (51).

Die Diarylstickstoffradikale sind organische Derivate des anorganischen Radikals Stickoxyd. Ähnlich konnten auch organische Derivate des Radikals NO_2 mit vierwertigem Stickstoff erhalten werden. Die Darstellung gelang durch vorsichtige Dehydrierung der Diaryl-hydroxylamine mit Silberoxyd zu den sog. Diaryl-stickstoffoxyden (XXX), deren Radikalcharakter schon aus der nahen Verwandtschaft zum NO_2, insbesondere aus der Ähnlichkeit der Spektren und selbst der Farbnuance hervorgeht (61). Sie verhalten sich in einigen Punkten etwas anders als die Diarylstickstoffradikale, vor allem zeigen sie, auch im Gegensatz zum NO_2, keinerlei Dimerisationsneigung, und die Assoziationsverbindungen mit anderen freien Radikalen lagern sich sofort zu Sekundärprodukten um (70). So entsteht z. B. mit NO primär die Verbindung XXXI, ein organisches Analogon des N_2O_3, dessen intermediäres Auftreten durch sein Nitrosierungsvermögen gegenüber zugesetzten sekundären aromatischen Aminen (zu XXXII) nachgewiesen werden konnte, das jedoch unter Wechsel der Oxydationsstufen spontan in das Nitramid XXXIII, ebenfalls ein substituiertes N_2O_3, übergeht (80). Aber auch dieses ist nur bei besetzter p-Stellung beständig und lagert sich sonst sofort in die p-Nitroverbindung XXXIV um. Mit Diarylstickstoffradikalen entsteht ähnlich das bereits vierfach aromatisch substituierte N_2O_3-Derivat XXXV, das zwar sofort wieder in die freien Radikale zerfällt, jedoch durch den zuweilen erfolgenden Austausch des Sauerstoffs zwischen den Stickstoffatomen (XXXVI) nachweisbar ist. Die Anlagerung von NO_2 führt schließlich zum N_2O_4-Analogon XXXVII, das sich aber in der angegebenen Weise ebenfalls sehr schnell umwandelt in das Mononitro-diarylstickstoffoxyd XXXVIII und schließlich durch nochmalige Wiederholung der gleichen Reaktionen in das analog konstituierte p, p'-Dinitro-diarylstickstoffoxyd übergeht (siehe obige Formel auf Spalte 2).

Trotz dieser großen Erfolge auf dem Gebiet der freien Radikale ist WIELAND nicht der Versuchung erlegen, nunmehr alle Reaktionen über intermediär auftretende freie Radikale erklären zu wollen, wie es zeitweise üblich war. Im Gegenteil, er lehnte derartige Tendenzen zum Teil scharf ab und konnte z. B. zeigen, daß die bekannte Disproportionierung von Hydrazobenzol zu Azobenzol und Anilin nicht über freie Radikale verläuft, sondern eine normale Hydrierung der N—N-Bindung



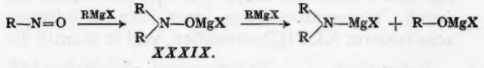
durch den beim Übergang von Hydrazobenzol in Azobenzol freiwerdenden Wasserstoff darstellt (63). Auch die Benzidinumlagerung verläuft bestimmt nicht über freie Stickstoffradikale, da ja gerade bei den Spaltungsreaktionen niemals das Auftreten von Benzidinderivaten beobachtet wurde.

3. *Der Verlauf der Grignard-Reaktion bei Nitrosoverbindungen.*

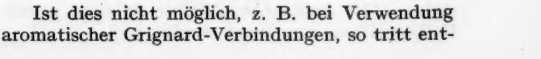
Bei den Versuchen zur Darstellung des für die Hydrazinarbeiten mehrfach benötigten Diphenylhydroxylamins stellte WIELAND fest, daß Nitrosoverbindungen sich bei der Grignard-Reaktion nur sehr selten, und auch dann nur unter besonderen Vorsichtsmaßregeln, normal zu den sekundären Hydroxylaminderivaten umsetzen. Die eingehende Untersuchung dieser Verhältnisse ergab:

1. Die für die Carbonylverbindungen typische aufbauende Hydrierung findet in erträglicher Ausbeute nur bei der Darstellung des Diphenylhydroxylamins aus Nitrosobenzol statt (50), (61), ferner bei der Einwirkung von aliphatischen Grignard-Verbindungen auf NO_2. Doch ist hier die Reaktion schon mit einer Reduktion des Stickstoffs zur dreiwertigen Stufe gekoppelt, so daß letzten Endes ebenfalls disubstituierte Hydroxylamine entstehen (2).

2. Im allgemeinen wird dagegen das sekundäre Amin gebildet, da das zunächst in normaler Reaktion entstehende Hydroxylaminderivat XXXIX auf ein zweites Molekül der Grignard-Verbindung unter Übertragung des Sauerstoffs oxydierend (nicht wie üblich reduzierend) wirkt (15), (65):



3. Wiederum anders verhält sich die Nitrosogruppe in den Nitrosaminen. Hier sollten normalerweise Oxyhydrazine (XL) entstehen, doch spaltet die OH-Gruppe stets mit benachbartem Wasserstoff unter Bildung eines Alkylidenhydrazons (XLI) wieder heraus (49):

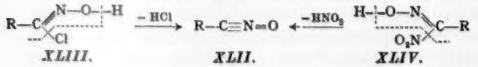


Ist dies nicht möglich, z. B. bei Verwendung aromatischer Grignard-Verbindungen, so tritt ent-

weder ebenfalls Reduktion ein (65) wie unter 2, oder aber es finden kompliziertere Ausweichreaktionen statt (49).

4. *Nitriloxyde und Furoxane.*

Ehe auf die Arbeiten über die Knallsäure eingegangen werden kann, müssen noch einige kleinere Arbeitsgruppen behandelt werden, auf die erstere zurückgreifen. Hier sind zunächst die Nitriloxyde (XLII) zu erwähnen, die WERNER erstmals durch Abspaltung von Salzsäure aus Hydroxamsäurechloriden (XLIII) erhalten hatte. Durch analoge Abspaltung von HNO_2 aus den Nitrolsäuren (XLIV), eine Reaktion, die wiederum die nahe Verwandtschaft der Cl- und Nitrogruppe zeigt, konnte WIELAND die Darstellung wesentlich vereinfachen (16), (31):



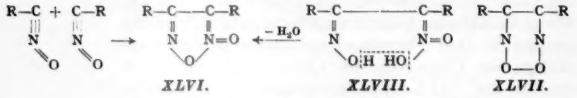
XLIII. *XLII.* *XLIV.*

Lediglich das erste Glied der Reihe, das Formonitriloxyd (Blausäureoxyd) erwies sich als nicht existenzfähig, da es sich unter den Reaktionsbedingungen gleich weiter zur Knallsäure (19) umlagert. Doch konnte es bei vorsichtigem Arbeiten wenigstens in Form seines Trimeren isoliert werden (30).

Die Nitriloxyde sind in monomerer Form sehr labile Verbindungen, die sich u. a. leicht in die entsprechenden Cyansäureester umlagern lassen (30). WIELAND glaubte daher anfangs, daß sie (in der ursprünglich angenommenen cyklischen Form XLV) als Zwischenprodukt beim Säureabbau nach HOFFMANN oder CURTIUS auftreten, mußte jedoch diese Hypothese später wieder aufgeben (39):

XLV.

Weitere Versuche beschäftigten sich mit der Polymerisation der Nitriloxyde, die, je nach den Reaktionsbedingungen, in verschiedenen Richtungen verlaufen kann (30). Von diesen ist bei weitem am wichtigsten die Dimerisation zu den Furoxanen (XLVI) (20), die früher fälschlich als Glyoximperoxyde (XLVII) aufgefaßt wurden. Den Furoxanen begegnete WIELAND schon früher bei den Pseudonitrositen (1), (4), aus denen sie durch Wasserabspaltung (aus der Isonitrosoacinitroform XLVIII) entstehen, und er konnte die

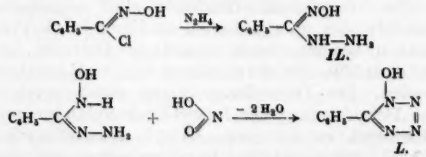


XLVI. *XLVIII.* *XLVII.*

schon auf Grund dieser Reaktion vermutete wahre Konstitution durch Überführen in die Furazane (24) sowie durch zahlreiche alkalische Abbaureaktionen zu Malon- und Oxalsäurederivaten mit Baryt (33), Anilin und Ammoniak (34), (42) eindeutig sicherstellen. Der Anilinabbau konnte zu einer neuen Indigosynthese ausgebaut werden (29).

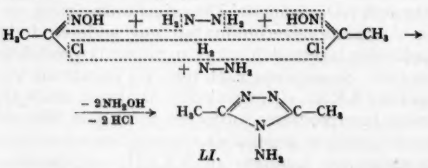
5. *Hydroxamsäurederivate und ihre Umwandlungsprodukte.*

Im Verlauf der vorstehend besprochenen Reaktionen wurden mehrfach Hydroxamsäurederivate mit einem zweiten Stickstoffsubstituenten erhalten, die recht interessante Reaktionen zeigen. So entsteht z. B. aus Benzhydroxamsäurechlorid und Hydrazin ein sog. Hydrazid-oxim (IL), von dem aus WIELAND mit salpetriger Säure, in Analogie zu den um eine OH-Gruppe ärmeren Hydrazidinen, in die damals noch unbekannte N-Oxy-tetrazolreihe (L) gelangte (38):



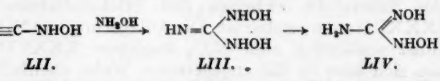
IL. *L.*

Aus dem gleich konstituierten Acethydroxamsäurechlorid entsteht dagegen unter ähnlichen Reaktionsbedingungen kein Hydrazidoxim, sondern in der aus den Formeln ersichtlichen Weise das Triazolderivat LI (21):



LI.

Zu einer weiteren interessanten Gruppe von Hydroxamsäurederivaten mit 2 Hydroxylaminresten im Molekül, den Säure-oxyamid-oximen (LV) kam WIELAND anläßlich der Untersuchung der Reaktion zwischen Bromcyan und Hydroxylamin. Hier konnte nur beim Phenylhydroxylamin das an sich erstrebte Cyan-hydroxylamin-derivat (analog LII) erhalten werden (9), (54). Im allgemeinen addiert aber die zunächst entstehende Verbindung LII ein weiteres Hydroxylamin-molekül an

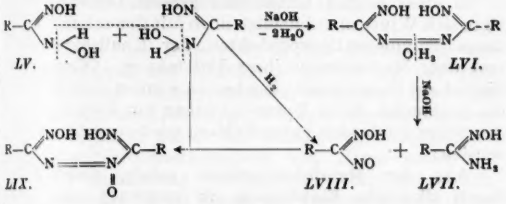


LII. *LIII.* *LIV.*

die CN-Gruppe unter Bildung von Dioxyguanidin (LIII), das sich jedoch sofort in das tautomere Oxyamidoxim der Carbaminsäure (LIV) umlagert (11). Die entsprechenden Oxyamidoxime der Carbonsäuren können auf verschiedenen Wegen gewonnen werden (18), (36), z. B. aus den Hydroxamsäurechloriden und Hydroxylamin (13), (18).

Die wichtigste Reaktion dieser Körperklasse ist ihre durch Alkali bewirkte Umwandlung in Azoverbindungen der Konstitution LVI, die jedoch in der alkalischen Lösung gleich wieder zerfallen unter Hydrolyse der Azobindung, wobei neben den schon bekannten Säureamid-oximen LVII eine neue Gruppe von Nitrosoverbindungen (LVIII) entsteht, für die wegen ihrer nahen Beziehung zu

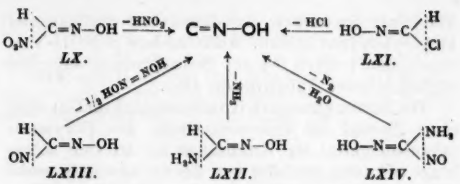
den Nitrolsäuren der Name Nitrosolsäure vorgeschlagen wurde (11), (13). Auch die direkte Oxydation von LV zu LVIII ist in einem Fall gelungen (11), ebenso die Kondensation von LV und LVI zu dem Azoxykörper LIX (22).



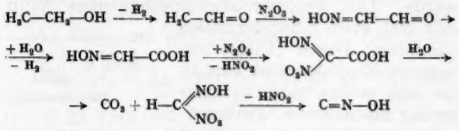
6. Die Bildung und Polymerisation der Knallsäure.

Die erste nähere Bekanntschaft mit der Knallsäure machte H. WIELAND anläßlich des oben beschriebenen Versuches, die Methylnitrolsäure in das Nitriloxyd der Blausäure zu verwandeln (19). Hierbei lagert sich das zunächst entstehende Formonitriloxyd sofort in die Knallsäure um, d. h. die Nitrogruppe tritt letzten Endes nicht mit dem Oximwasserstoff, sondern mit dem am gleichen Kohlenstoff sitzenden Wasserstoff aus (LX). Damit haben wir aber wieder die Parallele mit der analogen Chlorverbindung, dem Formylchloridoxim (LXI), das nach NEF ebenfalls leicht HCl zur Knallsäure abspaltet (wahrscheinlich auch über das Nitriloxyd). Dieses Prinzip der Eliminierung der Gruppen HX vom Oximkohlenstoffatom konnte noch auf einige andere Substituenten ausgedehnt werden, so z. B. auf die Abspaltung von Ammoniak aus dem Formamidoxim (LXII) (32) und der Nitrosogruppe (als untersalpetrige Säure) aus der Methylnitrosolsäure (LXIII) (36). Ja selbst die Abspaltung von 2 Resten X, Y ist u. U. möglich, wenn diese miteinander reagieren können. Als Beispiel sei die aus dem Dioxyguanidin über die obenerwähnte Azohydrolyse erhältliche Amidomethylnitrosolsäure (LXIV) erwähnt, die unter Bildung von Nitrosyl-amid bzw. dessen Spaltstücke Stickstoff und Wasser, in Knallsäure übergeht (32) (s. Formel 2. Sp. oben).

Die Auffindung der Knallsäurebildung aus der Methylnitrolsäure gab endlich auch die Möglich-

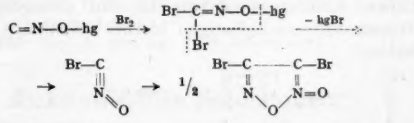


keit, den Mechanismus der klassischen Darstellungsweise aus Alkohol, Salpetersäure und Quecksilber zu deuten. Danach wird, in voller Analogie zur Haloformreaktion, der Alkohol zunächst zum Aldehyd oxydiert, dieser dann substituiert, weiter zur Säure oxydiert und schließlich die C—C-Bindung infolge der Belastung beider Kohlenstoffatome mit negativen Gruppen zu CO_2 und Methylnitrolsäure, der eigentlichen Muttersubstanz der Knallsäure, hydrolysiert:

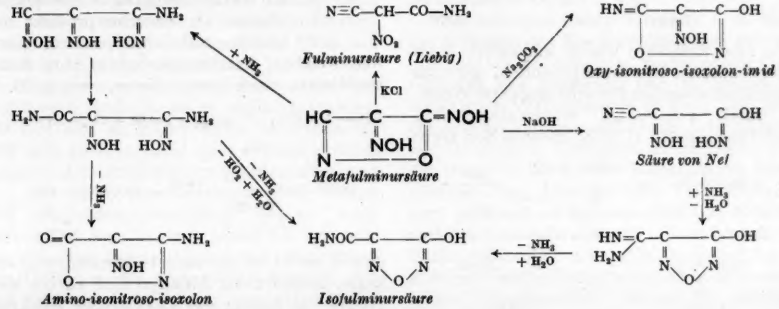


Jedes der angenommenen Zwischenprodukte ist bekannt und geht unter den Reaktionsbedingungen auch tatsächlich in Knallsäure über (19), (44).

Die nähere Untersuchung der Knallsäure ergab zunächst, daß die freie Säure zwar sehr labil, aber doch existenzfähig und mit Ätherdämpfen sogar destillierbar ist (35). Weiterhin konnte die bis dahin undurchsichtige Reaktion der knallsauren Salze mit freiem Halogen aufgeklärt werden. Sie führt im Sinne des folgenden Reaktionsschemas direkt zu den Dihalogen-furoxanen (37):

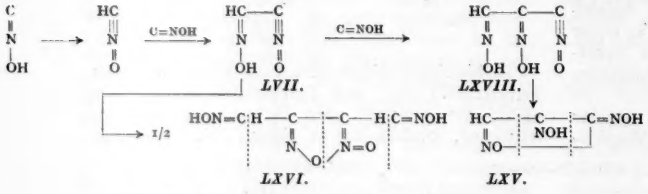


In ähnlicher Weise erfolgt die Einwirkung von Tritylchlorid (89) und Benzoylchlorid (90), die nicht, wie erwartet, den Oximwasserstoff substituieren, sondern das in diesem Fall beständige



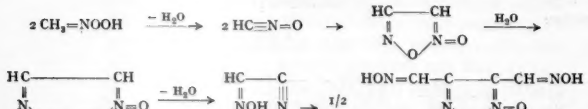
Trityl-nitriloxyd bzw. das daraus hervorgegangene Benzoyl-cyanat bilden. Auch andere =NOH-Verbindungen zeigten bei der Benzoylierung zuweilen Addition statt Substitution (84).

Die bestuntersuchte Knallsäurereaktion ist aber ohne Zweifel die Polymerisation. Die Polymerisationsneigung der Knallsäure ist an sich schon lange bekannt, und der von LIEBIG erstmals beobachteten Fulminursäure sind noch viele weitere Polymerisationsprodukte gefolgt, über deren Konstitution und Entstehung jedoch vielfach noch tiefes Dunkel herrschte. Hier konnte WIELAND in mehreren Untersuchungen zeigen, daß primär nur 2 Polymerisationsprodukte auftreten: die trimere Metafulminursäure (LXV) (35) und die nur in geringer Ausbeute daneben entstehende tetramere Isocyanilsäure (LVI) (82), deren Konstitution in beiden Fällen durch Abbau und bei letzterer auch durch Synthese eindeutig sichergestellt wurde. Den Polymerisationsmechanismus kann man sich etwa folgendermaßen vorstellen: Durch Anlagerung weiterer Knallsäuremoleküle an die sich wahrscheinlich intermediär ausbildende Nitriloxydendgruppe entstehen zunächst die Zwischenprodukte LXVII und LXVIII als Glieder einer polymer-homologen Reihe, deren weiteres Wachstum durch die Stabilisierung von LXVIII zur Metafulminursäure (Hauptmenge) und von LXVII zur Isocyanilsäure (Furoxandimerisation) unterbrochen wird: Wie aus den eingezeichneten Trennungslinien hervorgeht, bleiben die ursprünglichen Knallsäuremoleküle bis auf geringfügige Wasserstoffverschiebungen hierbei vollständig erhalten:



LXVII. *LXVIII.* *LXVI.* *LXV.*

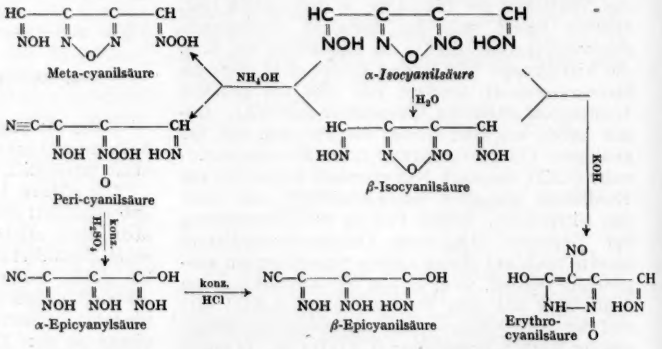
Für die Isocyanilsäure wurde schließlich noch eine sehr interessante Synthese gefunden, die vom Aci-Nitromethan ausgehend in sehr eleganter Weise, lediglich durch zweimalige Wasserabspaltung, über die Methazonsäure (LXIX) diese schon recht komplizierte Verbindung aufbaut. Wahrscheinlich führt hierbei der Weg über die gleiche Verbindung LXVII, die auch bei der Polymerisation der Knallsäure als Zwischenprodukt angenommen wurde.



LXIX. *LXVII.* *LXVI.*

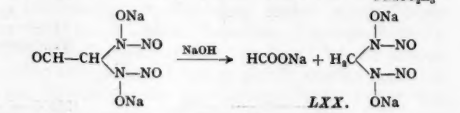
In einer letzten Untersuchungsreihe beschäftigte sich WIELAND schließlich noch mit den sekundären Polymerisationsprodukten der Knallsäure und dem Mechanismus ihrer Entstehung. Ohne hierbei auf Einzelheiten eingehen zu können, sollen die Ergebnisse dieser Untersuchungen nur kurz in den folgenden beiden Formelbildern wiedergegeben werden:

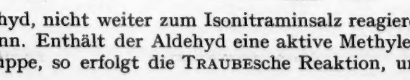
Aus der Metafulminursäure gehen, meist durch alkalische Einwirkung, im ganzen 5 isomere Verbindungen hervor (55) (s. Formel am Fuß der S. 357); während aus der normalen α-Isocyanilsäure sich sogar sechs zum Teil stereoisomere Sekundärprodukte gewinnen lassen (85), (86), (87):



7. *Stickoxyd und Alkoholate.*

Das letzte von WIELAND bearbeitete Gebiet der Stickstoffchemie befaßt sich ebenfalls mit der oxydativen Substitution eines Alkohols. Die zunächst völlig unverständliche Entstehung des TRAUBEschen Methylen-di-isonitraminnatriums (LXX) aus Natriumäthylat und Stickoxyd konnte dahingehend geklärt werden, daß das Stickoxyd allgemein befähigt ist, unter Übergang in Stickoxydul (das hierbei als Zwischenprodukt anzunehmende Natriumhyponitrit war nicht nachweisbar) Natriumalkoholate zum Aldehyd zu oxydieren, auch wenn dieser, wie z. B. Benzal-





dehyd, nicht weiter zum Isonitraminsalz reagieren kann. Enthält der Aldehyd eine aktive Methylengruppe, so erfolgt die TRAUBEsche Reaktion, und

wir kommen, analog der Haloformreaktion und der oben beschriebenen Knallquecksilberdarstellung, zu folgendem Reaktionsbild (83) (88) (s. Formel *LXX* S. 358 unten).

Die Reaktion hat sich auch auf eine Reihe anderer Alkohole übertragen lassen.

Mit der Untersuchung der Einwirkung von Stickoxyd auf Alkoholate fanden um das Jahr 1930 die Stickstoffarbeiten WIELANDS ihren Abschluß, um, dem Zuge der Zeit folgend, nunmehr vollständig hinter den wichtigeren Aufgaben der Konstitutionsermittelung von Naturstoffen und der Aufklärung biochemischer Vorgänge zurückzutreten. Doch bleibt die Hoffnung, daß dieser Abschluß kein endgültiger ist und daß dieses interessante Arbeitsgebiet auch in Zukunft noch in der einen oder anderen Richtung eine Ergänzung und Erweiterung erfahren möge.

Verzeichnis der Abhandlungen
(in der Reihenfolge des Erscheinens).

1903: (1) A. (= Liebigs Ann.) **328**, 154. — (2) B. (= Ber. dtsch. chem. Ges.) **36**, 2315. — (3) B. **36**, 2558. — (4) A. **329**, 225. — (5) B. **36**, 3015. — (6) B. **36**, 3020.

1904: (7) H. WIELAND, Habilitationsschrift, München 1904. — (8) B. **37**, 1524 (mit BLOCH). — (9) B. **37**, 1536. — (10) B. **37**, 2524 (mit BLOCH).

1905: (11) B. **38**, 1445. — (12) A. **340**, 63 (mit BLOCH).

1906: (13) B. **39**, 1480 (mit BAUER). — (14) B. **39**, 1488 (mit BLOCH). — (15) B. **39**, 1499 (mit GAMBARJAN). — (16) B. **39**, 2522 (mit SEMPER). — (17) B. **39**, 3036 (mit GAMBARJAN). — (18) A. **353**, 65.

1907: (19) B. **40**, 418. — (20) B. **40**, 1667. — (21) B. **40**, 1676. — (22) B. **40**, 1680 (mit BAUER). — (23) B. **40**, 4260. — (24) A. **358**, 36 (mit SEMPER).

1908: (25) A. **360**, 299 (mit STENZL). — (26) B. **41**, 3478. — (27) B. **41**, 3498. — (28) B. **41**, 3507 (mit GAMBARJAN). — (29) B. **41**, 3512 (mit GMELIN).

1909: (30) B. **42**, 803. — (31) B. **42**, 816. — (32) B. **42**, 820. — (33) A. **367**, 52 (mit SEMPER u. GMELIN). — (34) A. **367**, 80 (mit GMELIN). — (35) B. **42**, 1346 (mit HESS). — (36) B. **42**, 4175 (mit HESS). — (37) B. **42**, 4192. — (38) B. **42**, 4199. — (39) B. **42**, 4207.

1910: (40) B. **43**, 699 (mit WECKER). — (41) B. **43**, 712. — (42) A. **375**, 297 (mit GMELIN). — (43) B. **43**, 3260 (mit WECKER). — (44) B. **43**, 3362.

1911: (45) A. **381**, 200. — (46) A. **381**, 210. — (47) A. **381**, 217 (mit SÜSSER). — (48) A. **381**, 229 (mit ROSEEU). — (49) B. **44**, 898 (mit FRESSEL).

1912: (50) B. **45**, 494 (mit ROSEEU). — (51) A. **392**, 127, 133 (mit FRESSEL). — (52) A. **392**, 156 (mit LECHER). — (53) A. **392**, 169 (mit SÜSSER). — (54) A. **392**, 186 (mit ROSEEU). — (55) A. **392**, 196 (mit BAUMANN). — (56) B. **45**, 2600 (mit LECHER).

1913: (57) A. **401**, 233 (mit MÜLLER). — (58) A. **401**, 244 (mit REISENEGGER). — (59) B. **46**, 3296. — (60) B. **46**, 3304 (mit MÜLLER).

1914: (61) B. **47**, 2111 (mit OFFENBÄCHER).

1915: (62) B. **48**, 1078. — (63) B. **48**, 1098. — (64) B. **48**, 1112 (mit REVERDY). — (65) B. **48**, 1117 (mit ROSEEU).

1919: (66) B. **52**, 886. — (67) B. **52**, 893 (mit DOLGOW u. TALBOT). — (68) B. **52**, 898 (mit SAKELLARIOS), — (69) B. **53**, 201 (mit SAKELLARIOS). — (70) B. **53**, 210 (mit ROTH).

1920: (71) B. **53**, 1313. — (72) B. **53**, 1329 (mit SCHAMBERG). — (73) B. **53**, 1336 (mit HAAS). — (74) B. **53**, 1343 (mit WAGNER). — (75) A. **424**, 71, 75 (mit BLÜMICH). — (76) A. **424**, 92 (mit REINDEL). — (77) A. **424**, 100 (mit BLÜMICH).

1921: (78) B. **54**, 1770 (mit RAHN). — (79) B. **54**, 1776.

1922: (80) B. **55**, 1798 (mit KÖGL). — (81) B. **55**, 1804 (mit WECKER).

1925: (82) A. **444**, 7 (mit BAUMANN, REISENEGGER, SCHERER, THIELE, WILL, HAUSSMANN, FRANK).

1928: (83) B. **61**, 2382 (mit CHAVAN u. KLAGES).

1929: (84) B. **62**, 1250 (mit KITASATO). — (85) A. **475**, 42 (mit FRANK, KITASATO). — (86) A. **475**, 54 (mit KITASATO, FROMM). — (87) A. **478**, 43 (mit KITASATO, UTZINO).

1930: (88) B. **63**, 570 (mit KERR). — (89) A. **484**, 236 (mit ROSENFELD).

1933: (90) A. **505**, 245 (mit HÖCHTLEN).

Die Arbeiten Heinrich Wielands über stickstoffhaltige Naturstoffe (Alkaloide und Pterine).

Von CLEMENS SCHÖPF.

Die Untersuchung von Naturstoffen ist nach einem Ausspruch von H. WIELAND immer dann besonders reizvoll, wenn sie Stickstoff enthalten, der den organischen Verbindungen eine Fülle von Reaktionsmöglichkeiten verleiht, wie sie bei stickstofffreien Substanzen nicht entfernt im gleichen Maße vorhanden sind. So ist es nicht verwunderlich, daß fast alle an Naturstoffen interessierten Organiker sich auch in mehr oder minder großem Umfange mit stickstoffhaltigen Naturstoffen und besonders mit deren charakteristischsten Vertretern, den Alkaloiden, beschäftigt haben. Auch H. WIELAND hat sich in dem Maße, in dem sein Interesse von der Beschäftigung mit theoretisch wichtigen Gebieten der organischen Chemie sich mehr und mehr der Erforschung von Naturstoffen zuwandte, besonders auch mit stickstoffhaltigen Naturstoffen befaßt.

Bei manchen dieser Arbeiten, z. B. denen über die *Giftstoffe* des *Knollenblätterpilzes* und die *Pfeilgifte* aus *Calebassencurare*, waren schon die Schwierigkeiten der Isolierung und Reindarstellung der wirksamen Verbindungen so groß, daß allein hierfür eine langjährige mühevolle Arbeit aufgewendet werden mußte. Trotzdem ist im ersten Fall schon ein tiefer Einblick in die Konstitution der zugleich alkaloid- und eiweißartigen Verbindungen gelungen, während im zweiten Fall die Arbeiten noch nicht wesentlich über die Reindarstellung einer Reihe wirksamer Alkaloide, darunter des pharmakologisch wirksamsten unter allen bekannten Alkaloiden, hinausgeführt haben. In wieder einem

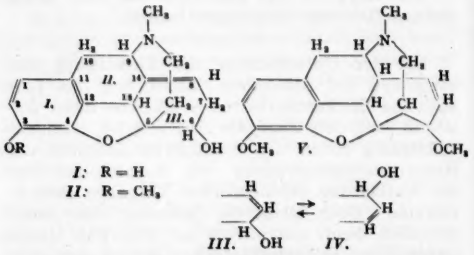
anderen Fall, bei der Untersuchung der *Morphiumalkaloide*, hat H. WIELAND bald das Gebiet seinen Schülern überlassen. Andere alkaloidartige Verbindungen sind bei der Untersuchung des giftigen *Drüsensekrets* der *Kröten* abgefallen. Die eingehenden Untersuchungen über die experimentell und theoretisch besonders große Schwierigkeiten bietende Gruppe der *Strychnosalkaloide* befinden sich noch in vollem Fluß.

Besonders weit gespannt ist der Bogen der Arbeiten von WIELAND und seinen Schülern über die *Alkaloide* der *Lobeliapflanze*. Hier führen die Arbeiten von der ersten Isolierung des Hauptalkaloids und zahlreicher Nebenalkaloide über die Konstitutionsermittlung bis zur Synthese, und in den Händen seiner Schüler darüber hinaus einerseits bis zur technischen Synthese des Lobelins und andererseits bis zu einer Vorstellung über die Entstehung der Hauptalkaloide in der Zelle.

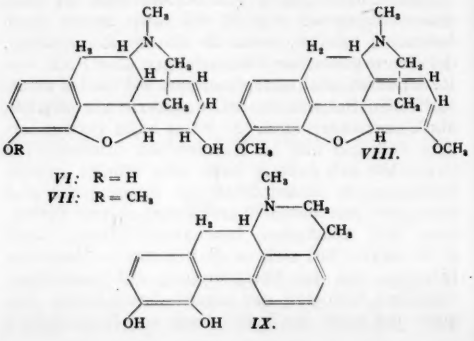
Weitgehend abgeschlossen sind auch die Untersuchungen über ein anderes Gebiet stickstoffhaltiger organischer Verbindungen, das der *Pterine*, die als die wesentlichen Bestandteile von Insektenpigmenten von WIELAND und seinen Schülern erstmalig rein dargestellt, in ihrer Konstitution aufgeklärt, und schließlich synthetisch erhalten werden konnten. Von den Schwierigkeiten und Ergebnissen aller dieser Arbeiten soll im folgenden bald ausführlicher, bald kürzer berichtet werden.

I. Arbeiten über Morphiumalkaloide.

Die Alkaloidarbeiten WIELANDS beginnen im Jahre 1911 mit einer Arbeit „Untersuchungen über das Morphin", in der die Einwirkung nitroser Gase auf das Morphin zu einer Reihe von Umwandlungen am Benzolkern des Morphins und besonders zur oxydativen Aufspaltung des Rings I des Morphins zur sog. Morphinsäure benutzt wurde[1]). Die Arbeit ist ein Beispiel der von H. WIELAND öfters, zuerst im Rahmen seiner Habilitationsschrift, untersuchten Einwirkung nitroser Gase auf organische Verbindungen. Für den Streit der Meinungen über die Konstitution des Morphins hat sie nichts Bleibendes beigetragen, ebensowenig wie die Aufstellung einer neuen Formel, der sog. Vinylformel des Morphins, die nach einer durch den Krieg bedingten Unterbrechung der Arbeiten 12 Jahre später von WIELAND selbst wieder zurückgezogen wurde[2]). Eine weitere Arbeit[3]) enthält als wesentliches und bleibendes Ergebnis den etwa gleichzeitig von GULLAND und ROBINSON gemachten Vorschlag[12]), die KNORR-HÖRLEINschen Formeln[10]) für *Morphin* (I) und *Codein* (II) durch Verschiebung der von KNORR und HÖRLEIN in 8,14-Stellung angenommenen Doppelbindung nach der 7,8-Stellung (III) zu verbessern. Dadurch wurde zum erstenmal der Übergang aus der Codein- (III) in die Pseudocodeinreihe (IV) als Allylumlagerung verständlich, und ebenso wurde zum erstenmal eine einleuchtende Erklärung der Isomerisierung des durch HOFMANNschen Abbau des Codeins erhältlichen α-Methylmorphimethins gegeben. Im übrigen hielt die Arbeit aber an der von KNORR und HÖRLEIN angenommenen Haftstelle der Seitenkette an C_5 fest und nahm für das *Thebain* einen Dreiring entsprechend der Formel V an[4, 5]).



H. WIELAND hat dann bald die weitere Bearbeitung der Morphiumalkaloide seinem Schüler SCHÖPF überlassen, der den experimentellen Nachweis dafür erbringen konnte[7]), daß die von ROBINSON[11]) zur Erklärung der unter Abspaltung der stickstoffhaltigen Seitenkette verlaufenden sog. Morpholspaltungen angenommene Haftstelle der Seitenkette an dem quartären Kohlenstoffatom C_{13} zu Recht besteht, so daß die Formeln VI und VII den endgültigen Ausdruck für die Konstitution des *Morphins* bzw. *Codeins* darstellen. Für das *Thebain* konnte er den sicheren Nachweis des Vorhandenseins zweier Doppelbindungen im Ring III erbringen[7]), was zusammen mit dem Nachweis von C_{13} als Haftstelle der Seitenkette in den Morphiumalkaloiden zur Thebainformel VIII führte, die sich von der KNORR-HÖRLEIN-Formel nur durch die Verschiebung der Seitenkette von C_5 nach C_{13} unterscheidet. Nachdem schließlich auch noch der Mechanismus der höchst eigenartigen Wanderung der Seitenkette von C_{13} nach C_8 bei der unter der Einwirkung starker Säuren sich vollziehenden Bildung von Apomorphin (IX) und Morphothebain aus Morphin bzw. Thebain als eine in zwei Stufen verlaufende Pinakolinumlagerung unter Wanderung der Seitenkette von C_{13} nach C_{14} (Metathebainonreihe) und weiter nach C_8 geklärt werden konnte[8, 9]), waren die Formeln VI—VIII für Morphin, Codein und Thebain endgültig bewiesen.

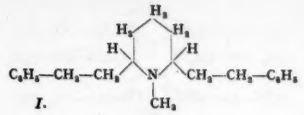


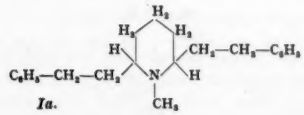
Alle später durchgeführten Untersuchungen, zu denen auch eine Untersuchung von WIELAND über die Ozonisierungsprodukte der Morphiumalkaloide gehört[8]), haben, ebenso wie die vielen weiteren von dem Mitarbeiter WIELANDS L. F. SMALL durchgeführten Abbauversuche und Umwandlungen in der Morphinreihe, zu keinerlei Widersprüchen mit diesen Formeln geführt, so daß durch den Anstoß, den R. ROBINSON einerseits, H. WIELAND andrerseits zur Bearbeitung des Morphinproblems gab, die endgültige Klärung der über 100 Jahre offenen Konstitutionsfrage der Morphiumalkaloide herbeigeführt wurde.

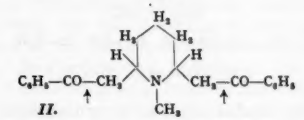
II. Arbeiten über Lobeliaalkaloide.

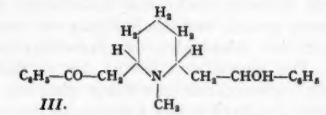
Die eingehende Beschäftigung H. WIELANDS mit Alkaloiden beginnt mit dem Jahre 1921, in dem er eine vorläufige Mitteilung über die Reindarstellung des Hauptalkaloids der Lobeliapflanze (L. inflata), des *Lobelins*, veröffentlicht, dessen eigenartige pharmakologische Eigenschaften von seinem Bruder HERMANN WIELAND untersucht wurden[1]). Mit der Aufnahme der technischen Herstellung des Lobelins durch die Firma C. H. Boehringer Sohn in Ingelheim und mit seiner Einführung in den Arzneischatz als atemzentrumerregendes Mittel war die Möglichkeit der eingehenden Untersuchung des Lobelins und seiner vielen Nebenalkaloide gegeben, Untersuchungen, die von H. WIELAND mit einer Reihe von Schülern jahrelang fortgeführt wurden. Sie ergaben, daß die überraschend zahlreichen Alkaloide, die neben dem Lobelin in der Lobeliapflanze vorkommen, sich nach ihrer Konstitution in drei Gruppen einteilen lassen, die *Lobelingruppe*, zu der das Hauptalkaloid gehört und die Alkaloide mit 21 und 22 Kohlenstoffatomen umfaßt, und die *Lelobin-* und *Lobiningruppe*, die zahlreiche Nebenalkaloide mit 17 und 18 Kohlenstoffatomen umfassen.

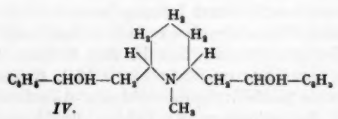
Von Alkaloiden der *Lobelingruppe* sind bisher fünf in der Lobeliapflanze aufgefunden worden, die sich alle als vom *Lobelan* (I) abgeleitete Alkohole oder Ketone erwiesen haben. Das Hauptalkaloid, das *Lobelin*, ist der Ketoalkohol der Formel III, daneben kommt noch sein Oxydationsprodukt, das Diketon *Lobelanin* (II), und sein Reduktionsprodukt, der Dialkohol *Lobelanidin* (IV), in der Pflanze vor. Lobelin, das in der Hauptsache als linksdrehendes Alkaloid (Lobelin), in geringer Menge auch als Racemat, das anfangs als „Lobelidin" beschrieben worden war, in der Pflanze vorkommt, geht durch gelinde Oxydation mit Chromsäure in Lobelanin, durch Reduktion mit Natriumamalgam in Lobelanidin über. Neben diesen Alkaloiden mit tertiärem Stickstoff wurden auch solche mit sekundärem gefunden, nämlich das dem Lobelanin entsprechende *nor-Lobelanin* (II; H statt CH_3), das zuerst als „Isolobelanin" beschrieben worden war, und das dem Lobelanidin entsprechende *nor-Lobelanidin* (XVII; entspricht IV, H statt CH_3). Diese beiden nor-Basen gehen durch Methylierung am Stickstoff in Lobelanin bzw. Lobelanidin über.



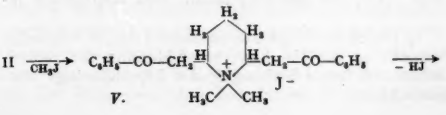


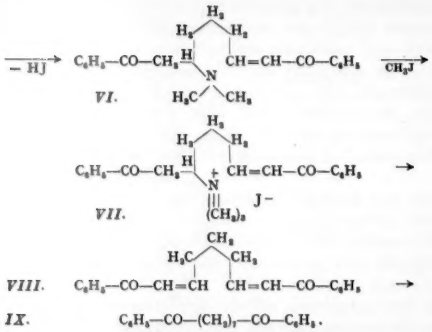






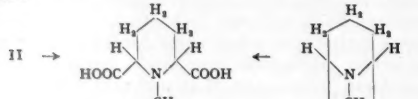
Die *Konstitutionsermittlung* dieser Alkaloide, deren Zusammenhang aus dem vorstehend Gesagten hervorgeht, nimmt ihren Ausgang vom *Lobelanin* (II), das sich als besonders leicht den verschiedensten Abbaureaktionen zugänglich erwies. Die entscheidenden Ergebnisse wurden einerseits durch HOFMANNschen Abbau, andererseits durch energische Oxydation mit Chromsäure erhalten[3]). Behandelt man Lobelanin mit Methyljodid, so wird zwar zuerst Methyljodid an den tertiären Stickstoff zum Jodmethylat (V) addiert; dieses spaltet aber sofort unter der Einwirkung des basischen Stickstoffs von noch unverändertem Lobelanin Jodwasserstoff ab und geht unter Ringöffnung in die tertiäre Base VI über, die neben der äquivalenten Menge des jodwasserstoffsauren Salzes der Ausgangsbase entsteht. VI lagert schließlich noch einmal Methyljodid zum Jodmethylat (VII) an, das nun schon unter den mildesten Bedingungen Trimethylamin abspaltet und in das doppelt ungesättigte, nicht rein dargestellte Diketon VIII übergeht. Dessen Konstitution geht daraus hervor, daß es sich durch Reduktion in das *1,7-Dibenzoyl-heptan* (IX) überführen läßt, das mit Ausnahme des als Methylgruppe am Stickstoff gebundenen Kohlenstoffatoms noch alle Kohlenstoffatome des Lobelanins enthält.





VI. *VII.* *VIII.* *IX.* $C_6H_5—CO—(CH_2)_7—CO—C_6H_5$.

Mit der Isolierung des 1,7-Dibenzoyl-heptans (IX) als Abbauprodukt des Lobelanins war das Kohlenstoffgerüst und die Stellung der Sauerstoffatome in den Alkaloiden der Lobelingruppe festgelegt. Die Größe und Natur des in ihnen enthaltenen stickstoffhaltigen Rings ging aus der energischen Oxydation des Lobelanins mit Chromsäure in schwefelsaurer Lösung hervor, die in übersichtlicher Weise durch oxydative Spaltung neben den Ketogruppen an den in der Formel II mit Pfeilen bezeichneten Stellen zu 2 Mol. *Benzoesäure* und der cis-N-Methyl-piperidin-α,α'-dicarbonsäure, der sog. *Scopolinsäure* (X), führte. In dieser ist die cis-Stellung der Carboxylgruppen dadurch bewiesen, daß sie auch aus dem Hydroscopolin (XI) durch Aufspaltung des an diesem Ringsystem nur in cis-Stellung möglichen Fünfrings entsteht. Mit diesem Abbau, der die Alkaloide der Lobelingruppe als Piperidinderivate charakterisiert, war nun die Konstitution des Lobelanins im Sinne der Formel II, und damit auch die seiner Reduktionsprodukte, des Lobelins (III) und des Lobelanidins (IV), geklärt.

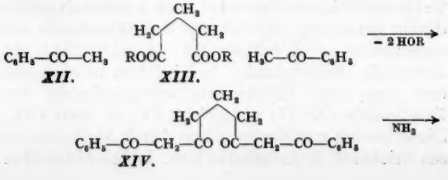


X. *XI.*

Stereochemisch bemerkenswert ist, daß die Alkaloide der Lobelingruppe sich vom *cis-Lobelan* (I)*) ableiten, und daß Derivate des stereoisomeren trans-Lobelans (Ia)*) nicht in der Lobeliapflanze aufgefunden wurden. Der Beweis für die cis-Konfiguration dieser Alkaloide ist nicht nur durch den Abbau zur Scopolinsäure (X), sondern außerdem auch noch dadurch erbracht, daß der optisch aktive, unsymmetrisch gebaute Ketoalkohol, das Lobelin (III), bei der Oxydation und Reduktion jeweils in eine optisch inaktive, nicht spaltbare und daher symmetrisch gebaute Verbindung, das Lobelanin bzw. Lobelanidin übergeht. Diese Basen besitzen aber nur dann einen symmetrischen Bau, wenn sie sich vom *cis*-Lobelan (I) ableiten. Somit war auch der räumliche Aufbau der Alkaloide der Lobelingruppe geklärt.

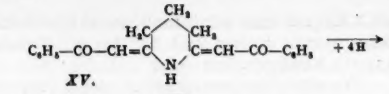
Alle Ketone der Lobelinreihe, nämlich Lobelin selbst und Lobelanin sowie selbstverständlich auch nor-Lobelanin, spalten sehr leicht unter den verschiedensten Bedingungen *Acetophenon* (XII) ab. Auf das eigenartige Schicksal des bei der Acetophenonabspaltung aus Lobelanin verbleibenden Restes, der bei der Spaltung mit alkoholischem Kali unter Methylaminabspaltung und Bildung eines zweiten aromatischen Rings in *Benzhydrol*, bei der Spaltung mit Säure in *Fluoren* übergeht[2, 3]), kann hier nicht näher eingegangen werden. Die leichte Herausspaltung des basischen Stickstoffs aus dem Lobelanin, die auch bei dem anormal und außergewöhnlich leicht verlaufenden HOFMANNschen Abbau zutage tritt, ist charakteristisch für β-Aminoketone und demnach in bester Übereinstimmung mit den Formeln II und III. Mit der Reduktion der Ketogruppen zu Hydroxylgruppen verschwindet die lockere Bindung des Stickstoffs ebenso wie die leichte Acetophenonabspaltung. Das Lobelanidin (IV) ist im Vakuum unzersetzt destillierbar; der Stickstoff läßt sich nicht einmal durch HOFMANNschen Abbau aus dem Molekül entfernen.

Die erste *Synthese* der Alkaloide der Lobelingruppe[4]) gelang H. WIELAND in der Weise, daß Glutarsäureester (XIII) nach dem Schema der Acetessigester-Kondensation mit 2 Mol. Acetophenon (XII) zum 1,7-Dibenzoyl-heptandion-2,6 (XIV) kondensiert wurde, das als zweifaches Enol reagiert und beim Einleiten von Ammoniak in die Schmelze unter doppelter Wasserabspaltung in das gelbe, kaum basische α,α'-Di-phenacyliden-piperidin (XV) überging. Mit Wasserstoff bei Gegenwart von Platinoxyd in Pyridin werden nur die Carbonylgruppen reduziert, wobei wegen des damit verbundenen Auftretens zweier gleichwertiger asymmetrischer Kohlenstoffatome eine Racem- und eine Mesoform entsteht, die als α- bzw. β-nor-Lobelanidien (XVI) bezeichnet wurden. Die Doppelbindungen konnten schließlich mit Aluminiumamalgam hydriert werden, und aus dem dabei entstehenden Gemisch der stereoisomeren Hydrierungsprodukte ließ sich, wenn man vom β-nor-Lobelanidien ausging, *nor-Lobelanidin* (XVII) isolieren, das in jeder Hinsicht mit dem natürlichen Alkaloid identisch war.

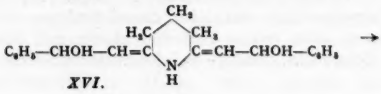


XII. *XIII.* *XIV.*

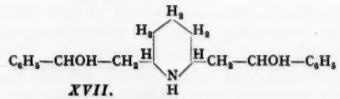
*) Durch die Schreibweise dieser und der folgenden Formeln ist die cis- bzw. trans-Stellung der Substituenten in den α-Stellungen des Piperidinrings ausgedrückt.



XV.



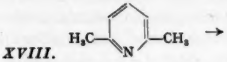
XVI.



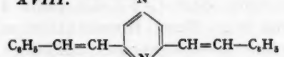
XVII.

Da, wie oben bereits erwähnt, nor-Lobelanidin zu Lobelanidin methyliert werden kann und dieses durch partielle Oxydation in rac. Lobelin und durch vollständige Oxydation in Lobelanin übergeführt werden kann, und da weiter das rac. Lobelin mit Weinsäure in die optischen Antipoden gespalten werden kann, von denen die linksdrehende Form mit dem natürlichen Lobelin identisch ist, so war damit die Synthese aller in der Pflanze vorkommenden Alkaloide der Lobelingruppe verwirklicht. Allerdings führt diese Synthese über so viele Zwischenprodukte und bedingt durch die Möglichkeit der Bildung zahlreicher stereoisomerer Verbindungen, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann, letzten Endes eine so schlechte Ausbeute an den gewünschten Basen, daß ihr keine praktische Bedeutung zukommt.

Die Aufgabe, Lobelin in technisch brauchbarer Weise synthetisch darzustellen, wurde von dem Schüler WIELANDS, G. SCHEUING, im wissenschaftlichen Laboratorium der Firma C. H. Boehringer Sohn in Ingelheim gelöst[8]). Diese Synthese geht aus vom 2,6-Lutidin (XVIII) des Steinkohlenteers, das durch Kondensation mit Benzaldehyd in das 2,6-Distyryl-pyridin (XIX) und über dessen Tetrabromid durch Abspaltung von 4 Mol. Bromwasserstoff in 2,6-Di-(β-phenäthinyl)-pyridin (XX) übergeht. Dieses lagert beim Behandeln mit Schwefelsäure 2 Mol. Wasser in der Weise an, daß das 2,6-Di-phenacyl-pyridin (XXI) entsteht, das durch Addition von Toluolsulfosäure-methylester in das quartäre Salz (XXII) übergeführt wird, in dem nun der Pyridinring so leicht hydrierbar ist, daß er bei der katalytischen Hydrierung zuerst reduziert wird. Die Hydrierung, bei der sowohl Derivate des cis- wie des trans-Lobelans entstehen können, führt offenbar bevorzugt zu den in der Natur vorkommenden Basen. Als erstes Produkt der Hydrierung wird demnach *Lobelanin* (II) erhalten.

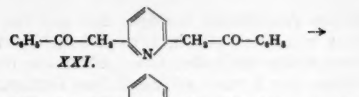


XVIII.

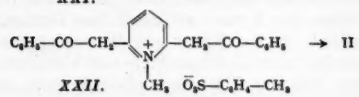


XIX.

XX.



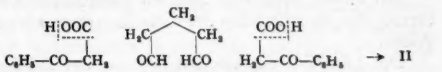
XXI.



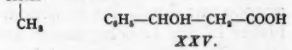
XXII.

Treibt man die Hydrierung weiter, so wird zuerst eine Ketogruppe reduziert, wodurch rac. Lobelin entsteht, und hydriert man noch weiter, so kann man schließlich Lobelanidin erhalten. Mit der Spaltung des rac. Lobelins in die optischen Antipoden ist die technische Synthese des Lobelins beendet. Das neben dem linksdrehenden Lobelin anfallende rechtsdrehende Isomere kann ebenso wie bei der Hydrierung anfallendes Lobelanidin durch Oxydation zum Lobelanin, durch dessen partielle Reduktion zum rac. Lobelin und dessen neuerliche Spaltung in die optischen Antipoden wiederum auf das linksdrehende Lobelin aufgearbeitet werden.

Eine besonders einfach verlaufende Synthese, der aber wegen der schweren Zugänglichkeit der Ausgangsmaterialien keine technische Bedeutung zukommt, wurde schließlich von C. SCHÖPF gefunden[9]). Läßt man Glutardialdehyd (XXIV) und Methylamin auf Benzoylessigsäure (XXIII) bei 25° in annähernd neutraler wäßriger Lösung einwirken, so entsteht unter Abspaltung von 2 Mol. Wasser und 2 Mol. Kohlendioxyd Lobelanin (II).



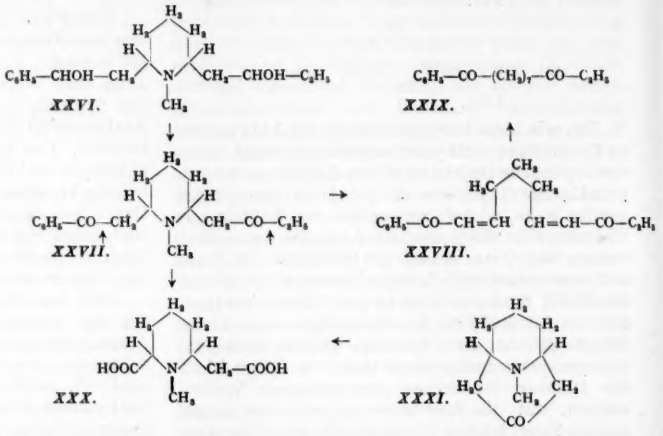
XXIII. *XXIV.*



XXV.

Mit Acetophenon als Ausgangsmaterial ist die Synthese nicht durchführbar; vielmehr zerfällt Lobelanin umgekehrt schon in neutraler und noch leichter in schwach alkalischer Lösung bei 25° unter Abspaltung von Acetophenon. Besonders bemerkenswert ist, daß diese Synthese gut nur in dem engen p_H-Bereich von etwa 3 bis 5, besonders gut bei p_H 4 verläuft. Da die Ausgangsmaterialien Verbindungen darstellen, die in der Pflanzenzelle auftreten können, und da das für die Synthese günstige p_H im sauren Zellsaft ohne weiteres erreicht werden kann, da ferner die Kondensation mit großer Geschwindigkeit verläuft und zu dem in der Natur vorkommenden cis-Lobelanin führt, ergab sich hieraus die Ansicht, daß man sich die Bildung des Lobelanins in der Zelle als ein Zusammentreffen der erwähnten Bausteine an Stellen saurer Reaktion vorzustellen hat. Die nor-Basen können entsprechend durch Mitwirkung von Ammoniak, und die Ketoalkohole und Dialkohole durch anschließende Reduktion der zuerst entstehenden Diketone in der Zelle zustande kommen. Daß die Benzoylessigsäure (XXIII) das Ausgangsmaterial bei der Biogenese des Lobelanins darstellt, war

daraus geschlossen worden, daß nur bei Verwendung von Benzoylessigsäure und nicht vom Acetophenon aus die Lobelaninsynthese aus dem durch Abbau des Lysins zellmöglichen Glutardialdehyd gelingt. In der Natur war Benzoylessigsäure oder eine ihr besonders nahestehende Verbindung, wenn man von der Zimtsäure absieht, noch nicht aufgefunden worden. Es ergab sich nun nachträglich eine wesentliche Stütze für die Richtigkeit der geschilderten Ansichten über die Biogenese der Alkaloide der Lobelingruppe aus der Beobachtung von H. WIELAND und seinen Mitarbeitern[7]), daß unter den Inhaltsstoffen der Lobeliapflanze in erheblichen Mengen die *β-Phenyl-β-oxy-propionsäure* (XXV), also das Reduktionsprodukt der Benzoylessigsäure sowohl in der racemischen als auch in der linksdrehenden Form vorkommt. In dieser Verbindung ist die Carboxylgruppe der Benzoylessigsäure, die bei der Kondensation zu Lobelanin abgespalten wird, infolge der Reduktion der Carbonylgruppe und der damit verbundenen Stabilisierung des Moleküls erhalten geblieben.



Mit diesen Synthesen sind die chemischen Probleme, die die Alkaloide der Lobelingruppe bieten, gelöst.

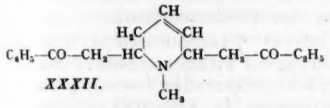
Die Alkaloide der zweiten Gruppe, der *Lelobingruppe*, unterscheiden sich von denen der Lobelingruppe nur durch das Kohlenstoffgerüst. Alle vier bisher in der Lobeliapflanze aufgefundenen Alkaloide dieser Gruppe sind Dialkohole, deren Struktur durch die Formel XXVI wiedergegeben wird. Das wichtigste Alkaloid der Gruppe, an dem auch die Konstitution zuerst ermittelt wurde, ist das *rac. Lelobanidin*. Seine Oxydation führt wie in der Lobelinreihe zu einem Diketon, dem *Lelobanin* (XXVII), dessen Abbau analog wie beim Lobelanin einerseits durch HOFMANNschen Abbau, andererseits durch energische Oxydation mit Chromsäure durchgeführt wurde. Der HOFMANNsche Abbau, der ähnlich dem des Lobelanins verläuft, führt zu dem doppelt ungesättigten Diketon XXVIII, das in das gesättigte Diketon XXIX übergeführt wurde, dessen Konstitution aus der Identität mit einem synthetisch gewonnenen Präparat hervorging. Aus diesem Abbau geht hervor, daß die Alkaloide der Lelobingruppe das Kohlenstoffgerüst der Lobelingruppe besitzen mit dem Unterschied, daß hier an Stelle eines Phenyls eine Äthylgruppe sich im Molekül befindet. Die energische Oxydation des Lelobanins führte durch Spaltung an den in XXVII mit einem Pfeil gekennzeichneten Stellen des Moleküls neben Benzoesäure und Essigsäure zur *Methylgranatsäure* (XXX). Da diese auch bei der Oxydation des Pseudopelleterins (XXXI) erhalten wird, muß sie die cis-Verbindung sein, woraus weiter auch für das rac. Lelobanidin die cis-Konfiguration folgt.

Die drei übrigen bisher in der Lobeliapflanze aufgefundenen Alkaloide dieser Gruppe stehen in einem sehr nahen Zusammenhang mit dem rac. Lelobanidin. Das (−)-*Lelobanidin I* ist die linksdrehende Komponente, das (+)-*nor-Lelobanidin* der nor-Körper der rechtsdrehenden Komponente des rac. Lelobanidins. Ein viertes Alkaloid dieser Gruppe, das (−)-*Lelobanidin II*, liefert bei der Oxydation dasselbe, hier natürlich optisch aktive Diketon XXVII wie das (−)-Lelobanidin I. Es hat daher in bezug auf die Substitution am Piperidinring dieselbe cis-Konfiguration wie das (−)-Lelobanidin I und das rac. Lelobanidin, und unterscheidet sich vom (−)-Lelobanidin I nur durch die Konfiguration an den asymmetrischen Kohlenstoffatomen, die die Hydroxylgruppen tragen.

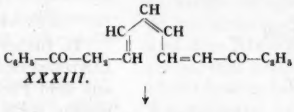
Besonders interessant ist bei den Alkaloiden dieser Gruppe, daß neben einer optisch aktiven nor-Base, dem (+)-nor-Lelobanidin, die entgegengesetzt drehende methylierte Base, das (−)-Lelobanidin I, und deren Racemat in der Pflanze vorkommt. Man kommt zu einer befriedigenden Deutung dieser eigenartigen Tatsache, wenn man annimmt, daß die Pflanze zuerst die racemische nor-Verbindung aufbaut, die dann in einer enzymatischen und daher für die d- und l-Form mit verschiedener Geschwindigkeit verlaufenden Reaktion methyliert wird. Dabei wird die rechtsdrehende nor-Base, das (+)-nor-Lelobanidin, langsamer methyliert, so daß dieses zum Teil übrigbleibt, während die methylierte Base entsprechend einen Überschuß an linksdrehender Verbindung, dem (−)-Lelobanidin I, enthält.

Die dritte in ihrer Konstitution aufgeklärte Gruppe, die *Lobiningruppe*, umfaßt bis jetzt vier Alkaloide, die Ketoalkohole *Lobinin*[6 7]) und *Isolobinin*, welch letzteres von dem WIELAND-Schüler O. THOMÄ aufgefunden worden war[10]), sowie die Dialkohole *Lobinanidin* und *Isolobinani-*

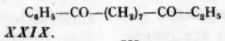
din[7]). Diese Alkaloide, die alle eine Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung enthalten, also ungesättigt sind, gehören paarweise zusammen, denn Lobinin und Lobinanidin liefern bei gelinder Oxydation dasselbe Diketon, das *Lobinanin* (XXXII), während Isolobinin und Isolobinanidin sich von dem stereoisomeren Diketon *Isolobinanin* ableiten. Der HOFMANNsche Abbau führt sowohl beim Lobinanin wie beim Isolobinanin zu einem dreifach ungesättigten tiefgelb gefärbten Diketon (XXXIII), das sich in Alkali unter Enolisation mit tiefvioletter Farbe löst. Bei der Reduktion liefert es dasselbe gesättigte Diketon (XXIX), das auch als Abbauprodukt der Alkaloide der Lelobingruppe erhalten wird. Damit war ein naher Zusammenhang mit der Lelobingruppe aufgedeckt, der für das Alkaloidpaar Isolobinin und Isolobinanidin ein besonders enger ist, da sie beide bei der katalytischen Hydrierung unter Absättigung der in ihnen enthaltenen Doppelbindung und Reduktion der Carbonylgruppe in ein Alkaloid der Lelobingruppe, das (—)-Lelobanidin I (XXVI) übergehen. Damit waren diese beiden Basen als ungesättigte Abkömmlinge der Lelobinreihe erkannt, für deren Doppelbindung nur die Lage in der 3,4- oder 4,5-Stellung des Piperidinrings in Frage kommt. Da weiter bei dem *Isolobinin* niemals eine Acetophenonabspaltung beobachtet wird, so muß ihm die Formel XXXV und dem *Isolobinanidin* die Formel des entsprechenden Dialkohols (XXXV; CHOH statt CO) zukommen; in diesen Formeln ist nur die Lage der Doppelbindung noch nicht sicher bewiesen.



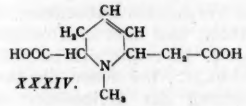
XXXII.



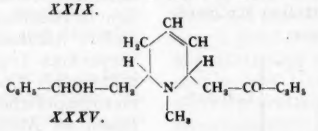
XXXIII.



XXIX.

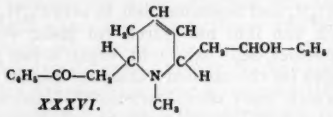


XXXIV.



XXXV.

Das zweite Alkaloidpaar dieser Gruppe, das Lobinin und Lobinanidin, leitet sich, wie schon erwähnt, von dem vom Isolobinanin verschiedenen *Lobinanin* ab, das offenbar ein Stereoisomeres des Isolobinanins, nämlich die entsprechende trans-Verbindung ist. Die Zugehörigkeit dieses Alkaloidpaares zur trans-Reihe zeigt sich auch darin, daß sie bei der katalytischen Hydrierung nicht in Dialkohole der Lelobinreihe, sondern in damit isomere Dialkohole übergehen. Da *Lobinin* leicht Acetophenon abspaltet, kommt ihm Formel XXXVI zu. Daß die Doppelbindung im Piperidinring liegt, ist durch den Abbau des Lobinanins zur ungesättigten *Lobininsäure* (XXXIV) sichergestellt. *Lobinanidin* ist durch die Formel des XXXVI entsprechenden Dialkohols (CHOH statt CO) wiederzugeben.



XXXVI.

Es ist auffallend, daß nur in der Lobiningruppe trans-Verbindungen gefunden wurden. Eine Erklärung hierfür läßt sich noch nicht geben, wie man sich auch noch keine genaueren Vorstellungen über die Biogenese der Alkaloide der Lelobin- und Lobiningruppe machen kann.

Mit den besprochenen drei Gruppen der Lobeliaalkaloide ist die Mannigfaltigkeit der basischen Inhaltsstoffe der Lobeliapflanze noch nicht erschöpft. Nicht weniger als fünf weitere Nebenalkaloide von meist niedrigerer Molekülgröße sind bisher schon kristallisiert erhalten worden[7]). Mehr als Vermutungen über ihre Konstitution liegen aber bis jetzt noch nicht vor. Ihre Konstitutionsermittlung wäre deshalb von besonderem Interesse, weil sie vielleicht Stabilisierungsprodukte von Zwischenstufen sind, die bei der Entstehung der Alkaloide der Lelobin- und Lobiningruppe in der Zelle durchlaufen werden. Ganz allgemein ist es bei den Alkaloiden wie bei allen Naturstoffen von großer Bedeutung, daß neben den Hauptalkaloiden auch alle Nebenalkaloide isoliert und in ihrer Konstitution aufgeklärt werden. Nur so wird ein umfassendes Bild dessen gewonnen, was die Zelle an synthetischen Leistungen vollbringt, und nur dann lassen sich Hypothesen und Theorien über die Entstehung von Naturstoffen in der Zelle aufstellen, die allen synthetischen Leistungen der Zelle Rechnung tragen. Hierin liegt wohl die letzte Begründung für die Notwendigkeit, *alles* zu untersuchen, was in der Zelle an organischen Verbindungen aufgebaut wird. Leider ist dieses Ziel praktisch fast nur da zu erreichen, wo z. B. wegen der medizinischen Bedeutung eines Naturstoffes seine Isolierung im großen in der Technik genügende Mengen an Nebenprodukten für die wissenschaftliche Forschung abfallen läßt.

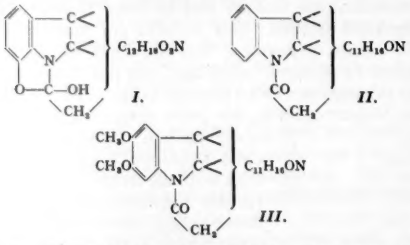
III. Arbeiten über Strychnosalkaloide.

In eine höchst komplizierte Gruppe von Alkaloiden führen 27 Arbeiten von H. WIELAND und seinen Schülern über Strychnosalkaloide. Den äußeren Anstoß zu diesen Arbeiten gab offenbar die Reindarstellung eines neuen, neben Strychnin und Brucin in der Brechnuß vorkommenden Alkaloids, des *Vomicins*, das durch einen Schüler WIELANDS, E. GMELIN, im Strychninbetrieb der Chemischen Fabrik C. H. Boehringer Sohn in Ingelheim aufgefunden worden war[1]).

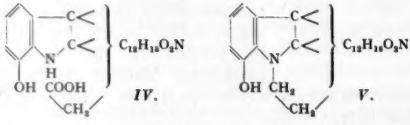
Die nähere Untersuchung dieses Alkaloids, das in seiner Summenformel $C_{22}H_{24}O_4N_2$ dem Strychnin

$C_{21}H_{22}O_3N_2$ und besonders dem Brucin $C_{23}H_{26}O_4N_2$, das sich von ihm nur durch ein Mehr von CH_2 unterscheidet, sehr nahesteht, ergab neben großen Analogien im chemischen Verhalten mit Strychnin und Brucin auch charakteristische Unterschiede.

Analog dem Verhalten von Strychnin und Brucin ist die Aufspaltbarkeit des Vomicins durch alkoholisches Kali zu einer Säure, der *Vomicinsäure*, bei deren Bildung wie dort ein Laktamring geöffnet wird[1]; analog ist ferner das Verhalten des Vomicins bei der katalytischen Hydrierung[1] und elektrolytischen Reduktion[8], bei der Oxydation mit Chromsäure[1, 9], sowie bei der Bildung einer Isonitrosoverbindung[11, 13, 15, 16, 19]. Ein wesentlicher Unterschied gegenüber Strychnin und Brucin ergab sich bei der Untersuchung der Methylierungsprodukte der Vomicinsäure[7] sowie des durch elektrolytische Reduktion aus Vomicin erhaltenen *Vomicidins*[8], die den Nachweis einer *phenolischen Hydroxylgruppe* in diesen Umwandlungsprodukten des Vomicins erbrachte, während im Vomicin selbst das phenolische Hydroxyl maskiert vorliegt. Die eingehende Untersuchung der Verhältnisse gestattete es, für das Vomicin die Teilformel I aufzustellen, die die Ähnlichkeit, aber auch den Unterschied in der Substitution des Benzolrings mit Strychnin (II) und Brucin (III) erkennen läßt.



In der Vomicinsäure (IV) und im Vomicidin (V) liegt das im Vomicin nicht unmittelbar nachweisbare phenolische Hydroxyl frei vor.



Der noch ungeklärte Rest $C_{12}H_{18}O_2N$ hat mit dem analogen Rest $C_{11}H_{16}ON$ aus Strychnin und Brucin wiederum insofern große Ähnlichkeit, als er wie dort eine Doppelbindung und ein Äthersauerstoffatom sowie ein tertiäres Stickstoffatom enthält. Er unterscheidet sich aber wesentlich durch ein Mehr an CH_2O mit einem zweiten Äthersauerstoffatom. Für den Einbau dieses Restes ergab sich aus vielen Umwandlungen des Vomicins und seiner Derivate, daß er als Brücke von einem Kohlenstoffatom zum Stickstoff geht, so daß also in dem noch ungeklärten Rest des Vomicins die Atomgruppierung $\rangle C-O-CH_2-N\langle$ eines Aldehydammoniaks vorkommt[17, 22, 26], die in Naturstoffen bisher noch nicht gefunden wurde. Diese Erkenntnis zwang weiter dazu, anzunehmen, daß das Vomicin einen carbocyclischen Ring weniger enthält als Strychnin und Brucin, wodurch ein weiterer Unterschied gegenüber diesen Alkaloiden gegeben ist. Bis zur völligen Aufklärung des Baues dieses in allen Strychnosalkaloiden der Konstitutionsermittlung die größten Schwierigkeiten bereitenden Restes $C_{12}H_{18}O_2N$ sind auch die Arbeiten WIELANDS noch nicht vorgedrungen. Am aussichtsreichsten erscheint die weitere Untersuchung des sog. *Vomipyrins*, das durch Dehydrierung einer aus Vomicidin durch Oxydation des Benzolkerns und thermischen Abbau der erhaltenen Dicarbonsäure gewonnenen Base $C_{16}H_{24}O_2N_2$ mit Palladium erhalten wurde[18, 26] und das ein durch Alkylreste substituiertes Pyrrochinolin ist, also ein tricyclisches aromatisches System mit einem Benzolkern, einem Pyridin- und einem Pyrrolring enthält. Seine Synthese[20, 21] oder Konstitutionsermittlung ist jedoch bis jetzt noch nicht gelungen.

So ist die Konstitutionsermittlung des Vomicins, ebenso die des Strychnins und Brucins noch nicht zum Abschluß gekommen, und erst die Diskussion eines noch viel größeren, höchst mühevoll zu beschaffenden experimentellen Materials wird entsprechend der Kompliziertheit der Strychnosalkaloide die endgültige Klärung der Konstitution des Vomicins und der übrigen Strychnosalkaloide bringen, zu deren Chemie die Arbeiten WIELANDS in Ergänzung der zahlreichen grundlegenden Arbeiten von LEUCHS, ROBINSON, SPÄTH und anderen gleichfalls wertvolle Beiträge[2–6, 11–13, 16, 19, 25] geliefert haben.

IV. Arbeiten über Calebassencurare.

In bisher 4 Arbeiten[1–4] befaßte sich H. WIELAND mit der Isolierung der wirksamen Substanzen aus dem Pfeilgift südamerikanischer Indianer, das wegen seiner Verpackung in Flaschenkürbissen Calebassencurare genannt wird, im Gegensatz zu dem in Bambusröhren verpackten Tubocurare, das andere Alkaloide enthält, und dem in Tontöpfen verpackten Topfcurare[5]. Es zeigte sich in höchst mühevollen Untersuchungen, bei denen die chromatographische Trennung der Reineckate der Basen an Aluminiumoxyd als wesentliche Trennungsstufe verwandt wurde, daß verschiedene und aus Calebassen verschiedener Herkunft nicht immer dieselben quartären Basen als kristallisierte Salze isoliert werden können, ein Hinweis darauf, daß verschiedene Pflanzen als Ausgangsstoffe für Calebassencurare Verwendung finden.

Eine dieser Pflanzen könnte Strychnos toxifera sein, aus deren Rinde neben dem auch in einer Probe von Calebassencurare gefundenen Toxiferin II das *Toxiferin I* kristallisiert erhalten werden konnte. Letztere Base ist die wirksamste Substanz der allem Anschein nach nahe miteinander verwandten Curare-Basen und zugleich das pharmakologisch wirksamste Alkaloid, das man kennt, da es in der minimalen Dosis von 0,3 γ bereits einen 40 g schweren Frosch lähmt.

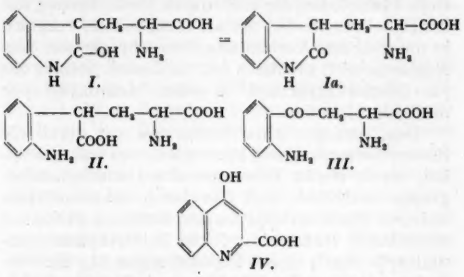
Für die Konstitutionsermittlung reichten die geringen Mengen der 7 erstmalig rein dargestellten quartären Basen, deren Chlorhydrate eigenartigerweise alle entweder der Formel $C_{20}H_{31}N_2Cl$ oder der Formel $C_{20}H_{33}N_2Cl$ entsprechen[4]), noch nicht aus. Ein Benzolkern, der vielleicht einem Chinolinring angehört, konnte in ihnen durch Nitrierung nachgewiesen werden.

V. Arbeiten über die Giftstoffe des Knollenblätterpilzes.

Hatte bei den Arbeiten über Curarealkaloide wohl die beispiellose Giftigkeit der wirksamen Alkaloide gefesselt, so lud bei den Arbeiten über die giftigen Substanzen der Knollenblätterpilze die Eigenart des Vergiftungsbildes und die praktische Bedeutung der immer wieder vorkommenden Vergiftungen durch Knollenblätterpilze zur Untersuchung der giftigen Substanz ein. Zahlreiche Untersuchungen früherer Bearbeiter hatten zu keinem Erfolg geführt. Auch die ersten Arbeiten, die auf WIELANDS Anregung von zweien seiner Schüler, RAAB und RENZ[3-5]) am grünen Knollenblätterpilz (Amanita phalloides) durchgeführt wurden, drangen noch nicht bis zur Reindarstellung des thermostabilen Giftes vor, wenn sie auch wesentliche Erkenntnisse über die Fällbarkeit der Giftstoffe und ihre Anreicherung an Hand eines Testes am Meerschweinchen ergaben. Aufbauend auf diesen Vorarbeiten gelang es dann erstmalig zwei anderen WIELAND-Schülern, F. LYNEN und U. WIELAND[6]), unter Verwendung eines einfacher zu handhabenden Testes an der Maus die rasch wirkende, in geringerer Menge vorliegende Giftkomponente, das *Phalloidin*, durch eine Folge von Reinigungsoperationen so weit anzureichern, daß es kristallisiert erhalten werden konnte. Die Konstitutionsermittlung des Phalloidins übernahm dann H. WIELAND[1]), dem es weiter gelang, den zweiten neben Phalloidin im grünen Knollenblätterpilz enthaltenen thermostabilen Giftstoff, das langsamer wirkende, aber weit giftigere Hauptgift, das *Amanitin*, kristallisiert zu erhalten[2]).

Phalloidin ließ sich durch Hydrolyse mit 30-proz. Schwefelsäure zu Aminosäuren hydrolysieren. Es erwies sich dadurch als ein Hexapeptid, dessen Molekül $C_{30}H_{39}O_9N_7S$ so zustande kommt, daß 1 Mol. Cystein, das für den Schwefelgehalt des Giftes verantwortlich ist, 2 Mol. Alanin, 2 Mol. Oxyprolin-b, das ein Stereoisomeres des gewöhnlichen im Eiweiß gefundenen Oxyprolins ist[7]), und 1 Mol. α-Oxytryptophan (I) unter Abspaltung von insgesamt 5 Mol. Wasser zu einem Hexapeptid zusammentreten, das schließlich noch ein weiteres Mol. Wasser abgespalten hat. Da Phalloidin keine freie Carboxyl- und Aminogruppe enthält, dürfte dieses letzte Mol. Wasser wohl zwischen der endständigen Carboxyl- und Aminogruppe abgespalten sein.

Von besonderem Interesse ist das erstmalig beobachtete Vorkommen des *α-Oxytryptophans* (I) in der Natur, dessen Konstitution aus der Summenformel und aus der Aufspaltbarkeit mit Alkali zu einer Aminosäure mit diazotierbarer und demnach aromatisch gebundener Aminogruppe (II) hervorgeht. Hier ist die erste Abbaustufe, die beim Übergang des Tryptophans über Kynurenin (III)[12]) in Kynurensäure (IV) nach den Ansichten von KOTAKE[8]) durchlaufen wird, in Substanz gefaßt.



Das synthetisch bisher noch nicht erhaltene α-Oxytryptophan hat neuerdings für die Frage der Entstehung der von E. BECKER als *Ommine* und *Ommatine* bezeichneten Augen- usw. Pigmente[11]) von Insekten Bedeutung erlangt. Es zeigte sich in Untersuchungen von BUTENANDT und Mitarbeitern, daß nicht nur die Zufuhr von Kynurenin[9, 12]), sondern auch von α-Oxytryptophan die Augenausfärbung bei Insekten bewirkt[10]). Das α-Oxytryptophan stellt also offenbar auch bei dieser zu Farbstoffen führenden Reaktionskette die Vorstufe des Kynurenins dar.

Das *Amanitin*, das stark giftige, aber langsamer wirkende Hauptgift des grünen Knollenblätterpilzes, steht nach der Summenformel $C_{33}H_{45}O_{12}N_7S$ und dem Absorptionsspektrum dem Phalloidin offenbar sehr nahe. Es läßt sich wie Phalloidin durch Hydrolyse zu bisher noch nicht näher untersuchten Aminosäuren aufspalten[2]).

Die Konstitution der beiden wirksamen Giftstoffe des Knollenblätterpilzes läßt Beziehungen zu den ja gleichfalls von einem Pilz erzeugten Mutterkornalkaloiden erkennen, die ebenfalls aus Aminosäuren oder Umwandlungsprodukten von Aminosäuren peptidartig aufgebaut sind. In beiden Fällen ist es besonders auffallend, daß nicht nur im Eiweiß vorkommende Aminosäuren, sondern auch sonst bisher noch nicht in der Natur gefundene Aminosäuren und Oxydationsprodukte von Aminosäuren am Aufbau dieser pharmakologisch höchst wirksamen Peptide teilnehmen.

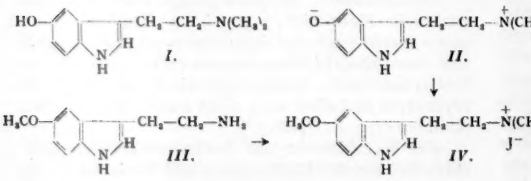
VI. Arbeiten über basische Inhaltsstoffe des Krötengiftes.

Neben den Laktonen der Steranreihe mit Digitaliswirkung, die in diesem Heft im Zusammenhang mit den Gallensäurearbeiten von H. WIELAND besprochen werden, kommen in dem Drüsensekret der verschiedenen Krötenarten verhältnismäßig niedermolekulare basische Verbindungen vor, die den Bearbeitern dieses Gebietes schon früh aufgefallen sind. Sicheres über ihre Konstitution war aber

nicht bekannt[5]), bis es WIELAND und seinen Mitarbeitern gelang, das *Bufotenin* (I), das *Bufotenidin* (II) und das *Bufothionin* (V), die jeweils aus verschiedenen Krötenarten isoliert worden waren, rein darzustellen und ihre Konstitution aufzuklären.

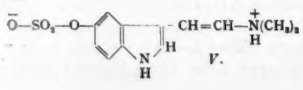
Bufotenin erwies sich, nachdem man es anfänglich für eine Aminosäure gehalten hatte[2]), als tertiäre Phenolbase, die z. B. durch Methylierung mit Diazomethan, wobei sie als inneres Salz reagiert, in die quartäre Verbindung übergeht, die mit dem *Bufotenidin*[2, 3]) identisch ist. In diesem konnte das phenolische Hydroxyl zu einer Methoxylgruppe methyliert werden.

Das Vorliegen eines Indolrings war durch die Zusammensetzung und Farbreaktionen wahrscheinlich, ferner mußte Bufotenin eine Dimethylaminogruppe enthalten, weil das durch Addition einer weiteren Methylgruppe an den tertiären Stickstoff entstehende Bufotenidin leicht Trimethylamin abspaltet[2]). Nach diesen Feststellungen lag die Vermutung nahe, daß das Bufotenin ein N-Dimethyl-5-(oder -6)-oxy-tryptamin ist. Die Synthese[3]) entschied zugunsten der ersten Möglichkeit; das aus 5-Methoxy-indol nach Methoden der Literatur synthetisierte 5-Methoxy-tryptamin (III) gab bei der erschöpfenden Methylierung an der Aminogruppe das quartäre Salz IV, das in jeder Hinsicht mit dem Produkt identisch war, das auch aus Bufotenidin durch Methylierung am phenolischen Hydroxyl erhalten wird. Damit war die Konstitution von Bufotenin und Bufotenidin im Sinne der Formeln I und II aufgeklärt.



Bufotenin selbst konnte dann auch von HOSHINO und SHIMODAIRA synthetisch erhalten werden[6]).

Das *Bufothionin*[1, 4]) erwies sich als das innere Salz des Schwefelsäureesters des Dehydrobufotenins, da es beim Erwärmen mit verdünnten Säuren leicht in diese Komponenten zerfällt. Das Dehydrobufotenin, dessen Abbau sehr große Schwierigkeiten bereitete, hat sich schließlich durch katalytische Hydrierung in schwach salzsaurer Lösung mit der berechneten Menge Wasserstoff zu Bufotenin hydrieren lassen. Mit diesen Feststellungen war auch die Konstitution des Bufothionins im Sinne der Formel V festgelegt, mit der auch alle Umwandlungen des Bufothionins im Einklang sind.



Die basischen Inhaltsstoffe des Krötengiftes, die zu den wenigen „tierischen Alkaloiden" gehören, die man kennt, kann man als vom Tryptophan abgeleitete biogene Amine ansehen, die noch durch Einführung von Sauerstoff in den Indolring und zum Teil durch Wegnahme von Wasserstoff aus der Seitenkette weiter verändert worden sind. Es mag in diesem Zusammenhang erwähnt werden, daß in dem Gift tropischer Kröten als weiterer basischer Inhaltsstoff *Adrenalin* gefunden wurde, das man analog als ein vom Dioxyphenylalanin abgeleitetes biogenes Amin auffassen kann, das gleichfalls durch Einführung von Sauerstoff diesmal in der Seitenkette noch weiter verändert worden ist.

VII. Arbeiten über Insektenfarbstoffe.

Die Isolierung der weißen, gelben bis orangeroten und roten Farbstoffe, die die Färbung der Flügelschuppen der Schmetterlinge aus der Familie der Weißlinge (Pieriden) bewirken, hat als erster in den Jahren 1889—91 F. G. HOPKINS versucht[30]). Es gelang ihm, aus Kohlweißlingen das *weiße Pigment* kristallisiert darzustellen, das in Zusammensetzung und Verhalten so große Ähnlichkeit mit der Harnsäure zeigte, daß er es für damit identisch hielt. Aus gelben Pieriden, z. B. aus den gelben Männchen des Zitronenfalters (G. rhamni), isolierte HOPKINS das *gelbe Pigment*, das er allerdings nicht kristallisiert und, wie wir heute wissen, auch nicht rein erhalten konnte. Die analytische Zusammensetzung des Rohfarbstoffes wies auf Beziehungen zur Puringruppe hin. HOPKINS erkannte weiter, daß außerdem in manchen Pieriden auch noch ein *roter Farbstoff* vorkommt, und daß zwischen den Chitinlamellen der Flügel ein *grünes „Interlaminarpigment"* abgelagert ist, das aus dem beim Entfalten der Flügel in sie hineingepumpten Blut der Falter stammt. Die weißen Pigmente, das gelbe und das rote Pigment der Flügel sind dagegen in den Flügelschuppen abgelagert und verdanken offenbar ihre Entstehung einem besonderen Mechanismus, zumal sie, wir wir heute wissen, in den Exkreten der Falter nicht vorkommen[3, 27]).

Im Jahre 1925 nahm H. WIELAND auf Anregung seines Mitarbeiters C. SCHÖPF die Untersuchung der in der Zwischenzeit nicht weiter untersuchten Farbstoffe auf. Diese Arbeiten, die teils von H. WIELAND gemeinsam mit einer Reihe von Mitarbeitern, teils von seinen Schülern R. PURRMANN und C. SCHÖPF, sowie dessen Schüler E. BECKER durchgeführt und durch wichtige Untersuchungen eines weiteren WIELAND-Schülers, W. KOSCHARA, ergänzt wurden, haben schließlich zur Konstitutionsermittlung und Synthese der drei wichtigsten Vertreter dieser neuen Gruppe von Verbindungen geführt, für die der Name *„Pterine"* geprägt wurde.

Es gelang bald, das gelbe Pigment des Zitronenfalters rein und kristallisiert zu erhalten[1]). Die analytische Zusammensetzung und die Eigenschaf-

ten dieses gelben Farbstoffes, des *Xanthopterins*, insbesondere die Murexidreaktion, ließen eine nahe Verwandtschaft mit dem Xanthin als wahrscheinlich erscheinen. Einige Zeit später gelang der Nachweis, daß das von HOPKINS für Harnsäure gehaltene kristallisierte weiße Pigment der Kohlweißlinge und anderer Pieriden zwar der Harnsäure sehr ähnlich, aber doch sicher von ihr verschieden ist; es wurde als *Leukopterin* bezeichnet[3]). Die weitere Arbeit bewegte sich nun hauptsächlich in drei Richtungen. Einmal wurde die Konstitutionsermittlung, insbesondere des verhältnismäßig am leichtesten zugänglichen Leukopterins, in Angriff genommen; dann wurde versucht, aus den Pieridenpigmenten, die immer Gemische verschiedener Verbindungen darstellen, weitere einheitliche Verbindungen zu isolieren, und schließlich wurde die Verbreitung der Pterine im Tier- und Pflanzenreich studiert.

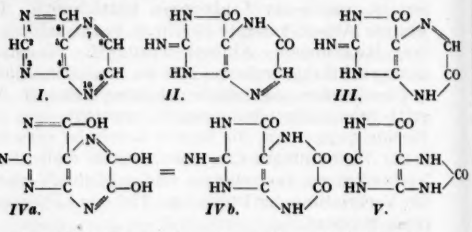
Bei diesen Arbeiten ergab sich, daß in Pieriden neben dem farblosen Leukopterin in geringer Menge noch ein weiteres farbloses Pigment, das *Desoxyleukopterin*, vorkommt, das im Anfang fälschlich als „Anhydroleukopterin" aufgefaßt und bezeichnet wurde. Es ergab sich weiter, daß das gelbe Xanthopterin in orangegelben und roten Pieriden in wechselnder Menge von einem roten Farbstoff, dem *Erythropterin*, begleitet wird. Neben diesen neuen Verbindungen fanden sich in geringer Menge auch einige noch nicht genau charakterisierte Substanzen[20-24]), sowie an Purinderivaten *Harnsäure*, *Xanthin*, *Hypoxanthin*[15, 26]) und *Isoguanin*, welch letzteres anfangs für eine neue Verbindung der Pteringruppe gehalten und als „Guanopterin" bezeichnet worden war[20, 16]). Das *„Interlaminarpigment"* von HOPKINS hat sich als ein grünes Chromoproteid erwiesen, dessen blaue Farbstoffkomponente, das *Pterobilin*, zu den Gallenfarbstoffen gehört[8]).

Während es im Anfang den Anschein hatte, als ob Pterine in der Natur nur in den Schuppen der Schmetterlinge aus der Familie der Pieriden vorkommen, zeigte sich bald, daß das Xanthopterin, das wegen seiner Farbe und der charakteristischen, vom p_H stark abhängigen Fluoreszenzfarben seiner Lösungen leicht nachzuweisen ist, und bei Verwendung eines Mikroadsorptionsrohres und beim Vorliegen verhältnismäßig reiner Lösungen noch in der winzigen Menge von 1 γ nachgewiesen werden kann, weit verbreitet ist. Es bewirkt z. B. die leuchtend gelbe Farbe der Wespen[19]), kommt also bei Hymenopteren vor und wurde auch in Neuropteren und Rhynchoten mikrochemisch nachgewiesen[21, 28]). Merkwürdigerweise ist das Vorkommen des Xanthopterins bei den Lepidopteren nur auf die Familie der Pieriden und bei anderen Insektenfamilien und -ordnungen jeweils nur auf wenige Arten beschränkt; offenbar ist nur selten die Summe der Voraussetzungen gegeben, die eine Ablagerung von Pterinen ermöglicht. Eine dieser Voraussetzungen ist bei den Insekten, daß an den Stellen der Pterinablagerung kein Gewebe mit regem Gaswechsel wie Fett- oder Muskelgewebe dem Chitin anliegt. Bei Wespen konnte von E. BECKER diese Beziehung bis ins einzelne nachgewiesen werden[28]). Besonders überraschend war die Feststellung von W. KOSCHARA, daß Xanthopterin als normaler Bestandteil im menschlichen Harn in einer Verdünnung von etwa 1 : 1 Million[11]) vorkommt; es wurde wegen dieses Vorkommens zuerst als „Uropterin" bezeichnet. Da Xanthopterin auch beim Rind, Kaninchen und Pferd sowie in pflanzlichem Material gefunden wird, ist es in der Natur in winzigen Mengen offenbar weit verbreitet. Seine Rolle im Stoffwechsel ist noch nicht geklärt[13, 14]). Die Ansicht, daß es bei Anämien spezifisch heilend wirkt, und daß die gegen perniziöse Anämie wirksame Substanz der Leber ein Pterin ist, hat sich nicht aufrechterhalten lassen.

Ist so die physiologische Bedeutung der Pterine noch ungeklärt, so ist ihre chemische Bearbeitung doch heute schon weitgehend abgeschlossen. Im Anfang bereitete allerdings die *Konstitutionsermittlung* der Pterine die größten Schwierigkeiten, zumal schon eine eindeutige Festlegung der Summenformel zuerst nicht gelang. Der wesentliche Grund dafür lag in außergewöhnlichen analytischen Schwierigkeiten. Der Stickstoffgehalt der Pterine wurde bei der Verbrennung nach DUMAS und bei der KJELDAHL-Bestimmung immer zu niedrig gefunden, während andererseits die KJELDAHL-Bestimmung mit vorherigem Aufschluß mit Jodwasserstoffsäure wiederum leicht wegen der Gefahr des Einschleppens von Spuren stickstoffhaltiger Verbindungen mit der Jodwasserstoffsäure zu hohe Werte lieferte. Noch schlimmer war, daß das kristallisierte Leukopterin beim Trocknen im Hochvakuum auch bei 150° noch Kristallwasser hartnäckig zurückhielt, so daß anfangs auch der Kohlenstoffgehalt zu niedrig gefunden wurde und so überhaupt keine sichere Basis für die Berechnung der Summenformel vorhanden war. Bei dem Xanthopterin lagen die Verhältnisse ähnlich; zwar gelang es hier bald, ein schön und einheitlich kristallisiertes Bariumsalz zu erhalten, aber dessen Neigung zur Hydrolyse bewirkte wiederum, daß die Bariumwerte schwankend und im allgemeinen zu niedrig gefunden wurden. Für das Leukopterin kam hinzu, daß die zuerst aus ihm gewonnenen Umwandlungsprodukte der Analyse ähnliche Schwierigkeiten bereiteten wie das Leukopterin selbst, und so kam es, zumal die Molekulargewichtsbestimmung der amphoteren, in indifferenten Lösungsmitteln unlöslichen Verbindungen auf Schwierigkeiten stieß, daß lange Zeit die Pterine für verhältnismäßig hochmolekulare Verbindungen gehalten wurden und für das Leukopterin die Summenformel $C_{19}H_{19}O_{11}N_{15}$ [3, 4]), für das Xanthopterin die Summenformel $C_{19}H_{18}O_6N_{16}$[20]) angenommen wurde. Es war allerdings schon früh aufgefallen, daß bei Annahme dieser Formeln alle Umsetzungen am Leukopterin sich *dreimal* vollzogen, was zu der Ansicht führte, daß im Leukopterin und Xanthopterin drei gleich oder wenigstens sehr

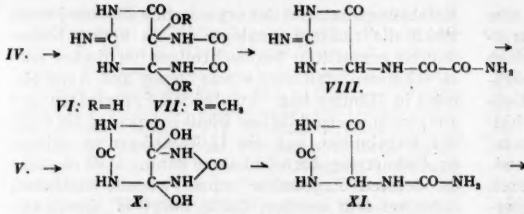
ähnlich gebaute Reste miteinander verknüpft vorliegen. Aber es hatte auch den Anschein, als ob manchmal von diesen drei Resten zwei völlig gleich, der dritte aber etwas abweichend reagierte, worin man wiederum eine Stütze der Formeln mit 19 Kohlenstoffatomen erblickte. Die Lage änderte sich erst, als gefunden wurde, daß Xanthopterin durch längere Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd oder noch besser katalytisch mit Sauerstoff und Platin als Katalysator zu Leukopterin oxydiert werden kann[5, 7]. Leukopterin war dadurch als ein Oxy-xanthopterin erkannt, eine Beziehung, die aber in den obenerwähnten Summenformeln mit 19 Kohlenstoffatomen deshalb nicht zum Ausdruck kam, weil nach diesen Formeln Leukopterin und Xanthopterin eine verschiedene Menge Stickstoff enthalten sollten, und Leukopterin nicht einfach durch eine Einführung von Sauerstoff in Xanthopterin zustande kommen konnte. Es ergab sich daraus der Schluß, daß die bisher angenommene Summenformel des Leukopterins nicht richtig sein konnte, und eine Revision der Analysen, die für das Leukopterin eine Trocknung bei der extrem hohen Temperatur von 170° im Vakuum erforderte, ergab dann auch, daß die Zusammensetzung des Leukopterins befriedigend durch die Summenformel $C_{18}H_{15}O_9N_{15}$ und die des Xanthopterins durch $C_{18}H_{15}O_6N_{15}$ wiedergegeben werden kann. Das war aber jeweils das Dreifache der Summenformel $C_6H_5O_3N_5$ für Leukopterin und $C_6H_5O_2N_5$ für Xanthopterin, und da sich weiter herausstellte, daß einige Abbauprodukte des Leukopterins, die man bis dahin für Verbindungen mit 15, 14 und 13 Kohlenstoffatomen gehalten hatte, in Wirklichkeit niedrigmolekulare Abbauprodukte mit höchstens 5 Kohlenstoffatomen waren, die nur durch die Schwierigkeiten der Reindarstellung und der Analyse schwer in ihrer einfachen Zusammensetzung scharf zu fassen waren, so war kein Grund mehr vorhanden, an den Formeln mit 19 bzw. 18 Kohlenstoffatomen weiter festzuhalten. Es ergaben sich so nach vielen Irrtümern die einfachen Summenformeln $C_6H_5O_3N_5$ für das *Leukopterin* und $C_6H_5O_2N_5$ für das *Xanthopterin*[7, 9], die schließlich durch die Synthese dieser Pterine[16, 17] und durch die Überführung des Leukopterins mit Diazomethan in das leicht lösliche und nicht dissoziierende β-Trimethyl-leukopterin und dessen Molekulargewichtsbestimmung[10] endgültig bestätigt wurden. Für das *Desoxyleukopterin* war durch die Analyse und die schon früher aufgefundenen Übergänge in Leukopterinderivate nun auch die Formel $C_6H_5O_2N_5$ festgelegt; Desoxyleukopterin ist also ein farbloses Isomeres des gelben Xanthopterins[9]. Die Summenformel des am schwersten zugänglichen Erythropterins steht noch nicht fest[20]; auch konnte es noch nicht in einen Zusammenhang mit den übrigen Pterinen gebracht werden.

Die bisher in ihrer Konstitution aufgeklärten drei Pterine haben sich als Derivate eines bis dahin noch nicht in der Natur aufgefundenen Ringsystems, des *Pteridins* (I), erwiesen, und man definiert am einfachsten heute die Pterine als Aminooxy-pteridine[32]. Das Leukopterin ist das 2-Amino-6,8,9-trioxy-pteridin (IVa), das wie die Derivate des Purins zweckmäßig in der „Ketoform" IVb geschrieben wird, das Xanthopterin das 2-Amino-6,8-dioxy-pteridin (II) und das mit dem Xanthopterin isomere Desoxyleukopterin das 2-Amino-6,9-dioxy-pteridin (III).



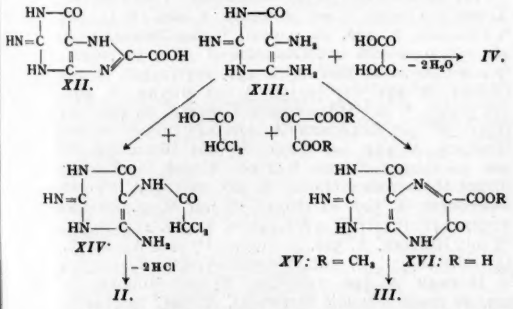
Der *Konstitutionsbeweis* wurde zuerst für das farblose *Leukopterin* geführt, das nicht nur, wie das HOPKINS schon aufgefallen war, in der Kristallform, der Löslichkeit usw., sondern auch im chemischen Verhalten große Ähnlichkeit mit der *Harnsäure* (V) zeigt. So gibt Leukopterin die Murexidreaktion, ein Hinweis darauf, daß in ihm ein Pyrimidinring vorliegt, der in Alloxan übergehen kann; bei der energischen Hydrolyse mit Säuren liefert es wie Purine und Pyrimidine Glykokoll[3, 23]. Noch wichtiger war die Beobachtung, daß Leukopterin mit Chlorwasser ebenso wie die Harnsäure (V) glatt 2 OH-Gruppen an die Doppelbindung in der 4,5-Stellung zum *Leukopterin-glykol* (VI) und analog mit Chlor in Methanol 2 OCH_3-Gruppen zum *Leukopterin-glykol-dimethyläther* (VII) anlagert. Die leicht erfolgende Hydrolyse dieser Verbindungen lieferte nun die Spaltstücke, die den charakteristischen Unterschied zwischen Leukopterin und Harnsäure enthüllten, nämlich *Guanidin* (IX) und *Oxalsäure* statt Harnstoff und Kohlendioxyd beim Harnsäureglykol (X). Auch der vorsichtige Abbau des Leukopterin-glykols (VI) mit Alkali verlief analog dem entsprechenden Abbau des Harnsäureglykols (X). So wie dort unter Verengung des Pyrimidinrings durch Abspaltung von Kohlendioxyd und unter gleichzeitiger Aufspaltung des zweiten Rings an C_5 Allantoin (XI) entsteht[29], so wird hier in völlig analoger Weise das *2-Iminohydantoin-oxamid* (VIII) erhalten, das man vor der Klarstellung dieses Abbaues durch R. PURRMANN[7] für eine Verbindung mit 14 Kohlenstoffatomen gehalten hatte. Es wird leicht durch Hydrolyse an dem Oxamidrest bis zum 2-Imino-5-amino-hydantoin weiter abgebaut.

Mit allen diesen Feststellungen war die Konstitution des Leukopterins im Sinne der Formel IV im Jahre 1940 im wesentlichen geklärt mit der einen Einschränkung, daß noch nicht sicher zwischen der Formel IV und der Formel XII entschieden werden konnte, da für die heute als VIII erkannte Verbindung damals auch noch eine Formel mit der Seitenkette $-NH-C:NH-COOH$ an Stelle von



VI: R=H *VII:* R=CH_3

$-NH-CO-CO-NH_2$ möglich erschien. Die Entscheidung zwischen diesen beiden Möglichkeiten wurde auch noch nicht durch die von R. PURRMANN durchgeführte *Synthese* des *Leukopterin* erbracht, das sich beim Schmelzen von 2,4,5-Triamino-6-oxy-pyrimidin (XIII) mit Oxalsäure unter Abspaltung von 2 Mol. Wasser in fast quantitativer Ausbeute bildet, denn hierbei konnte sowohl IV als auch XII entstehen[16]). Ebensowenig gab die Synthese des *Desimino-leukopterins* (IVb; O= statt HN=)[17]), das aus Leukopterin mit salpetriger Säure unter Ersatz von NH durch O erhalten worden war[3, 6]), aus 4,5-Diamino-2,6-dioxy-pyrimidin (XIII; O= statt HN=) und Oxalsäure eine Entscheidung. Erst die Synthese des 3-Methyl-desimino-leukopterins und der Nachweis, daß diese Verbindung verschieden ist von dem bekannten und in seiner Konstitution sichergestellten 3-Methylderivat der Carbonsäure XII[31]), entschied zugunsten der Formel IV für Leukopterin und zeigte, daß das Leukopterin nicht ein Purin- sondern ein Pteridin-derivat ist[17]). Ein weiterer Beweis dafür ist, daß das Desiminoleukopterin mit Phosphorpentachlorid ein Tetrachlorpteridin (I; Cl statt H) liefert, in dem die Chloratome in der 8- und 9-Stellung fast so leicht wie in einem Säurechlorid hydrolysiert werden[25]).



Da das Xanthopterin, wie schon erwähnt, bei der Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd oder bei der katalytischen Oxydation mit Luftsauerstoff unter Aufnahme von einem Sauerstoffatom in das nun in seiner Konstitution sichergestellte Leukopterin übergeht, mußte es ein Desoxyleukopterin sein. Zwischen den verschiedenen Möglichkeiten entschied die *Synthese* des *Xanthopterins* durch R. PURRMANN[17]) zugunsten der Formel II. Die Synthese geht wie die Leukopterinsynthese aus vom 2,4,5-Triamino-6-oxy-pyrimidin (XIII), das mit Dichloressigsäure in Analogie zu zahlreichen derartigen Umsetzungen an der Aminogruppe an C_5 zum Säureamid XIV reagiert. Die Abspaltung von 2 Mol. Salzsäure führte zu Xanthopterin, das in jeder Hinsicht mit dem natürlichen Xanthopterin identisch war und für das durch diese Synthese eindeutig die Konstitution II nachgewiesen ist. Sie steht in bester Übereinstimmung mit den Reaktionen des Xanthopterins, aus dem vorher durch Oxydation mit Kaliumchlorat Oxalylguanidin und Glyoxylsäure als besonders charakteristische Abbauprodukte erhalten worden waren[32]). Bemerkenswert ist die Farbe des Xanthopterins, dessen Absorption gerade so weit ins sichtbare Gebiet reicht, daß es zitronengelb erscheint; in Mineralsäuren ist es jedoch farblos löslich.

Mit diesen Untersuchungen über einen Insektenfarbstoff ist zugleich das „Uropterin" aufgeklärt und synthetisch zugänglich geworden, das bei Säugetieren und in pflanzlichem Material nur in solcher Verdünnung vorkommt, daß die daraus gewinnbaren Mengen wohl nie zur Konstitutionsermittlung gereicht hätten.

Schließlich konnte auch die Konstitution des farblosen Isomeren des Xanthopterins, des *Desoxyleukopterins*, durch die Synthese eindeutig im Sinne der Formel III geklärt werden[18]). Die analytische Untersuchung und der Abbau dieses nur in geringer Menge im Pigment der Pieriden vorkommenden Pterins hatte zuerst die Verwirrung auf dem Pteringebiet erheblich gesteigert, weil es als ein „Anhydroleukopterin" aufgefaßt und beschrieben worden war, dessen Übergang mit salpetriger Säure in Desiminoleukopterin (IVb; O= statt HN=) und mit Chlorwasser in Leukopteringlykol (VI) man als Reaktionen aufgefaßt hatte, bei denen jeweils Wasser angelagert wird. Die Formulierung einer um 1 Mol. Wasser ärmeren Verbindung war nun von einer Leukopterinformel mit nur 6 Kohlenstoffatomen aus nicht möglich, und so trägt auch das „Anhydroleukopterin" einen erheblichen Teil der Schuld daran, daß man so lange die Pterine für verhältnismäßig hochmolekulare Verbindungen hielt. Erst die Feststellung der richtigen Zusammensetzung[9]) machte den Weg für die Erkenntnis frei, daß bei den erwähnten Übergängen jeweils nicht eine Wasseranlagerung, sondern eine Oxydation statthat. Desoxyleukopterin konnte, da die Formel des 9-Desoxyleukopterins für das Xanthopterin festgelegt war, nur noch ein 6- oder ein 8-Desoxyleukopterin sein. Die *Synthese* von R. PURRMANN[18]) entschied zugunsten der letzteren Möglichkeit. Auch diese Synthese geht von demselben 2,4,5-Triamino-6-oxy-pyrimidin (XIII) aus, das zur Synthese des Leukopterins und Xanthopterins gedient hatte. Da die Umsetzung mit Chloral und Glyoxylsäureester nicht zum Ziel führte, wurde mit Dioxymalonester kon-

densiert, wobei in einer Operation die SCHIFFsche Base gebildet und der Ring zum Desoxyleukopterincarbonsäureester (XV) geschlossen wurde. Dessen Verseifung zur freien Säure (XVI) und deren Decarboxylierung durch Erhitzen auf 240° ergab schließlich das Desoxyleukopterin, das in allen Eigenschaften mit dem natürlichen Produkt übereinstimmte.

Es ist bemerkenswert, daß die Isomerie zwischen Xanthopterin und Desoxyleukopterin, deren konstitutionelle Unterschiede nur geringfügig erscheinen, wesentliche Unterschiede in den Eigenschaften und im chemischen Verhalten dieser Verbindungen bedingt. So ist das Xanthopterin gelb und zeigt neben sauren ausgesprochen basische Eigenschaften, während Desoxyleukopterin farblos und praktisch ebensowenig basisch ist wie Leukopterin. Xanthopterin läßt sich leicht katalytisch mit Sauerstoff zu Leukopterin oxydieren, während Desoxyleukopterin dieser Reaktion nicht zugänglich ist. Andererseits geht Desoxyleukopterin mit Nitrit glatt in Desiminoleukopterin, mit Chlorwasser in Leukopterin-glykol über, wobei jeweils an C_8 ein Sauerstoffatom eintritt, während beim Xanthopterin diese Übergänge nicht gelingen. Auf den Versuch, diese Unterschiede zu erklären[18]), kann hier nicht eingegangen werden. Auch eine zweite von PURRMANN durchgeführte Xanthopterin-Synthese, die wie die Synthese des Desoxyleukopterins über eine Carbonsäure führt[18]), kann hier nur gerade erwähnt werden. Auffallend ist noch die große Ähnlichkeit in Farbe und Fluoreszenzverhalten zwischen Xanthopterin und den Flavinen, z. B. dem Lactoflavin, die mit dem Vorkommen eines Pteridinrings in beiden zusammenhängen muß; Leukopterin und Desoxyleukopterin zeigen dagegen keine Ähnlichkeit mit den Flavinen.

Damit ist die Konstitutionsermittlung und die Synthese der drei wichtigsten Pterine gelungen und ausschließlich durch die Arbeiten von WIELAND und seinen Schülern eine neue Klasse von Naturstoffen erschlossen worden, deren Stellung im Stoffwechsel trotz einiger Ansätze[13, 14]) noch der endgültigen Klärung harrt.

Wenn im vorstehenden versucht wurde, ein Bild von den Ergebnissen der Arbeiten H. WIELANDS über stickstoffhaltige Naturstoffe zu geben, das in seiner Buntheit die Vielfalt der synthetischen Leistungen der Zelle wiederspiegelt, so kann dieses Bild nicht oder nur sehr unvollkommen den zähen Kampf mit nur mühsam oder auf Umwegen zur Kristallisation zu bringenden „Schmieren" und die unzähligen anderen experimentellen Schwierigkeiten wiedergeben, die bei Arbeiten über Naturstoffe in unentwegter Laboratoriumsarbeit überwunden werden müssen. In der Überwindung dieser Schwierigkeiten ist WIELAND aber Meister, und die experimentelle Arbeit ist für ihn nicht so sehr Mühe als vielmehr eine Quelle ständiger Befriedigung und Freude. Nicht weniger Meister ist H. WIELAND aber auch in der für die Erforschung der Naturstoffe ebenso wesentlichen Fähigkeit, auf Grund einer umfassenden Übersicht über das riesige Erfahrungsmaterial der organischen Chemie jeweils rasch die richtige Analogie zu an neuen Naturstoffen gemachten Beobachtungen zu finden oder zu erkennen, daß man etwas Neues und Analogieloses in Händen hat. Aus beiden Fähigkeiten und aus einem unermüdlichen Fleiß entspringt die Fülle der Ergebnisse, auf die H. WIELAND an seinem 65. Geburtstag zurückblicken kann. Daß es nicht die letzten Ergebnisse seiner wissenschaftlichen Arbeiten sein werden, dafür bürgt H. WIELANDS Frische und seine ungebrochene Freude am Experiment.

Literatur zu den Arbeiten H. WIELANDS *und seiner Schüler über stickstoffhaltige Naturstoffe.*

I. Arbeiten über Morphiumalkaloide: [1]) mit KAPPELMEIER, Liebigs Ann.*) **382**, 306 (1911); [2]) mit KORALEK, A. **433**, 267 (1923); [3]) mit KOTAKE, A. **444**, 69 (1925); [4]) mit KOTAKE, Ber. dtsch. chem. Ges. **58**, 2009 (1925); [5]) mit GARBSCH, Ber. dtsch. chem. Ges. **59**, 2490 (1926); [6]) mit SMALL, A. **467**, 17 (1928). — Arbeiten von WIELAND-Schülern: [7]) SCHÖPF, A. **452**, 211 (1927); [8]) SCHÖPF u. BORKOWSKY, A. **458**, 148 (1927); [9]) SCHÖPF u. HIRSCH, A. **489**, 224 (1931) und weitere Arbeiten. — Weitere Literatur: [10]) KNORR u. HÖRLEIN, Ber. dtsch. chem. Ges. **40**, 3341 (1907); [11]) GULLAND u. ROBINSON, J. chem. Soc. Lond. **123**, 980 (1923); [12]) GULLAND u. ROBINSON, Mem. a. Proc. Manchester Soc. 1924/25, Nr. 10.

II. Arbeiten über Lobeliaalkaloide: [1]) Ber. dtsch. chem. Ges. **54**, 1784 (1921); [2]) mit SCHÖPF u. HERMSEN, A. **444**, 40 (1925); [3]) mit DRAGENDORFF, A. **473**, 83 (1929); [4]) mit DRISHAUS, A. **473**, 102 (1929); [5]) mit KOSCHARA u. DANE, A. **473**, 118 (1929); [6]) mit ISHIMASA u. KOSCHARA, A. **491**, 14 (1931); [7]) mit KOSCHARA, DANE, RENZ, SCHWARZE u. LINDE, A. **540**, 103 (1939). — Arbeiten von WIELAND-Schülern: [8]) SCHEUING u. WINTERHALDER, A. **473**, 126 (1929); [9]) SCHÖPF u. LEHMANN, A. **518**, 12 (1935); [10]) THOMÄ, A. **540**, 99 (1939).

III. Arbeiten über Strychnosalkaloide: [1]) mit OERTEL, A. **469**, 193 (1929); [2]) mit MÜNSTER, A. **469**, 216 (1929); [3]) CORTESE, A. **476**, 280 (1929); [4]) mit MÜNSTER, A. **480**, 39 (1930); [5]) mit GUMLICH, A. **482**, 50 (1930); [6]) mit CALVET u. MOYER, A. **491**, 107 (1931); [7]) mit CALVET, A. **491**, 117 (1931); [8]) mit MOYER, A. **491**, 129 (1931); [9]) mit HÖLSCHER u. CORTESE, A. **491**, 133 (1931); [10]) mit HÖLSCHER, A. **491**, 149 (1931); [11]) mit GUMLICH, A. **494**, 191 (1932); [12]) mit HÖLSCHER, A. **500**, 70 (1933); [13]) mit KAZIRO, A. **506**, 60 (1933); [14]) mit HÖLSCHER u. BOSE, A. **507**, 69 (1933); [15]) mit VARVOGLIS, A. **507**, 82 (1933); [16]) mit MAHLERWEIN, A. **527**, 141 (1937); [17]) mit KIMMIG, A. **527**, 151 (1937); [18]) mit HORNER, A. **528**, 73 (1937); [19]) mit WILLE, A. **531**, 268 (1937); [20]) mit HORNER, A. **536**, 89 (1938); [21]) HORNER, A. **540**, 73 (1939); [22]) mit MÜLLER, A. **545**, 59 (1940); [23]) mit SCHMAUSS, A. **545**, 72 (1940); [24]) mit JENNEN, A. **545**, 86 (1940); [25]) mit JENNEN, A. **545**, 99 (1940); [26]) mit HORNER, A. **545**, 112 (1940); mit Thiel, A. **550**, 287 (1942).

IV. Arbeiten über Calebassen-Curare: [1]) mit KONZ u. SONDERHOFF, A. **527**, 160 (1937); [2]) mit PISTOR, A. **536**, 68 (1938); [3]) mit PISTOR u. BÄHR, A. **547**, 140 (1941); [4]) mit BÄHR u. WITKOP, A. **547**, 156 (1941). — Vgl. ferner die umfassende Übersicht über die neueren Arbeiten über Pfeilgifte, die [5]) WITKOP, Chemie **55**, 85 (1942) gegeben hat.

V. Arbeiten über die Giftstoffe des Knollenblätterpilzes: [1]) mit WITKOP, A. **543**, 171 (1940); [2]) mit

*) Im folgenden als „A." bezeichnet.

HALLERMAYER, A. **548**, 1 (1941). — Arbeiten von WIELAND-Schülern: [3]) RAAB, Hoppe-Seylers Z. **207**, 157 (1932); [4]) RAAB u. RENZ, Hoppe-Seylers Z. **216**, 224 (1933); [5]) RENZ, Hoppe-Seylers Z. **230**, 245 (1934); [6]) LYNEN u. U. WIELAND, A. **533**, 93 (1938). — Weitere Literatur: [7]) LEUCHS u. BORMANN, Ber. dtsch. chem. Ges. **52**, 2086 (1919); [8]) Y. KOTAKE, Erg. Physiol. **37**, 245 (1935); [9]) BUTENANDT, WEIDEL u. BECKER, Naturwiss. **28**, 63 (1940); [10]) BUTENANDT, WEIDEL u. BECKER, Naturwiss. **28**, 447 (1940); [11]) BECKER, Naturwiss. **29**, 237 (1941); [12]) BUTENANDT, WEIDEL u. VON DERJUGIN, Naturwiss. **30**, 51 (1942).

VI. Arbeiten über basische Inhaltsstoffe des Krötengiftes: [1]) mit VOCKE, A. **481**, 215 (1930); [2]) mit HESSE u. MITTASCH, Ber. dtsch. chem. Ges. **64**, 2099 (1931); [3]) mit KONZ u. MITTASCH, A. **513**, 1 (1934); [4]) mit TH. WIELAND, A. **528**, 237 (1937). — Weitere Literatur: [5]) JENSEN u. CHEN, Ber. dtsch. chem. Ges. **65**, 1310 (1932); [6]) HOSHINO u. SHIMODAIRA, A. **520**, 21 (1935)

VII. Arbeiten über Pterine: [1]) mit SCHÖPF, Ber. dtsch. chem. Ges. **58**, 2178 (1925); [2]) mit SCHÖPF u. BÜLOW, Ber. dtsch. chem. Ges. **59**, 2067 (1926); [3]) mit METZGER, SCHÖPF u. BÜLOW, A. **507**, 226 (1933); [4]) mit KOTZSCHMAR, A. **530**, 152 (1937); [5]) mit PURRMANN, A. **539**, 179 (1939); [6]) mit TARTTER, A. **543**, 287 (1940); [7]) mit PURRMANN, A. **544**, 163 (1940); [8]) mit TARTTER, A. **545**, 197 (1940); [9]) mit TARTTER u. PURRMANN, A. **545**, 209 (1940); [10]) mit DECKER, A. **547**, 180 (1941). — Arbeiten von WIELAND-Schülern: [11]) KOSCHARA, Hoppe-Seylers Z. **240**, 127 (1936); [12]) KOSCHARA, Hoppe-Seylers Z. **250**, 161 (1937); [13]) KOSCHARA, Hoppe-Seylers Z. **258**, 39 (1939); [14]) KOSCHARA, Hoppe-Seylers Z. **259**, 97 (1939); [15]) PURRMANN, Hoppe-Seylers Z. **260**, 105 (1939); [16]) PURRMANN, A. **544**, 182 (1940); [17]) PURRMANN, A. **546**, 98 (1940); [18]) PURRMANN, A. **548**, 284 (1941); [19]) SCHÖPF u. BECKER, A. **507**, 266 (1933); [20]) SCHÖPF u. BECKER, A. **524**, 94 (1936); [21]) SCHÖPF u. BECKER, A. **524**, 124 (1936); [22]) SCHÖPF u. KOTTLER, A. **539**, 528 (1939); [23]) SCHÖPF, BECKER u. REICHERT, A. **539**, 156 (1939); [24]) SCHÖPF, KOTTLER u. REICHERT, A. **539**, 168 (1939); [25]) SCHÖPF, REICHERT u. RIEFSTAHL, A. **148**, 82 (1941); [26]) TARTTER, Hoppe-Seylers Z. **266**, 130 (1940). — Weitere Literatur: [27]) BECKER, Hoppe-Seylers Z. **246**, 177 (1937); [28]) BECKER, Z. Morphol. u. Ökol. d. Tiere **32**, 672 (1937); [29]) BILTZ u. MAX, Ber. dtsch. chem. Ges. **54**, 2454 (1921); [30]) F. G. HOPKINS, Nature (Lond.) **40**, 335 (1889); **45**, 197, 581 (1891/92); Phil. Trans. roy. Soc. Lond. (B) **186**, 661 (1895); [31]) TRAUBE, A. **432**, 276 (1923); [32]) WEYGAND, Österr. Chem.-Z. **44**, 254, 277 (1941).

Kurze Originalmitteilungen.

Für die kurzen Originalmitteilungen ist ausschließlich der Verfasser verantwortlich.

Über ein hochwirksames Glykosid aus dem Pollen von Crocus.

Die als Sexualstoffe der einzelligen Grünalge Chlamydomonas bekannten Substanzen sind alle aus den *Narben* einer Blütenpflanze, dem Safran, chemisch isoliert worden: das Carotinoidglykosid Crocin, welches die Geschlechtszellen beweglich macht; die Carotinoide cis- und trans-Crocetindimethylester, welche die beweglichen Gameten zur Kopulation bringen; das Pikrocrocin, unter dessen Einfluß Zwitterzellen zu weiblichen Gameten werden, und sein Aglykon (4-Hydroxy-2,6,6-trimethyl-Δ^1-tetrahydro-benzaldehyd), das umgekehrt zwittrigen Zellen die Eigenschaften männlicher Gameten aufprägt[1]).

Wir haben nun geprüft, ob nicht auch im *Pollen* von Crocus Stoffe vorkommen, die Wirkungen auf die Geschlechtszellen dieser Alge ausüben. Zur Untersuchung gelangte Pollen von *Crocus Sir John Bright*, der 1941 in Holland gewachsen war. Für die mühevolle Sammlung und die Überlassung des wertvollen Materials haben wir Herrn Prof. E. VAN SLOGTEREN sehr zu danken. Es ist uns gelungen, daraus in geringer Menge ein *Glykosid* zu gewinnen, das aus Wasser in seideglänzenden Nadeln kristallisiert (s. Fig. 1), bei 188—189° (Zers.) schmilzt und in $^n/_{10}$ Natronlauge linksdrehend ist: $[\alpha]_D^{20} = -85°$. Dieses Glykosid hat die bemerkenswerte Eigenschaft, bewegliche ♂- und ♀-Gameten von *Chlamydomonas eugametos f. simplex* und *f. typica* noch in sehr hohen Verdünnungen unbeweglich zu machen, wobei es zur *Abstoßung der Geißeln* kommt. Qualitativ gleichartig wirken verschiedene Schwermetallsalze, am stärksten Ag^+-Ionen sowie Invertseifen. Das Glykosid aus Crocuspollen ist aber noch um mehrere Zehnerpotenzen wirksamer. Die Verdünnungen (g:ccm), in denen praktisch alle Gameten eben noch unbeweglich werden, betragen für

Fig. 1. Glykosid aus Crocuspollen. 60×

$CuSO_4$	$<1:20$	$ZnSO_4$	$1:10^4$
$MnSO_4$	$1:2\cdot10^2$	$HgCl_2$	$1:5\cdot10^4$
$Pb(NO_3)_2$	$1:10^3$	$AgNO_3$	$1:10^8$
$CoCl_2$	$1:10^3$	Zephirol	$1:10^8$
Glykosid aus Pollen von Crocus			$1:6\cdot10^{12}$

Nachdem in allen Versuchen $2\cdot10^6$ Gameten/ccm vorhanden waren und das Molekulargewicht des Glykosifds etwa 650 beträgt, berechnet sich, daß rund 80 Molekeln des Glykosids auf 1 Gameten genügen, damit dieser seine Geißeln abwirft und unbeweglich wird. Um einen Antagonisten des aus den Narben von Crocus stammenden Beweglichkeitsstoffes Crocin handelt es sich bei dem Pollenglykosid nicht. Es gelingt auf keine Weise, die Gameten durch kristallisiertes Crocin gegen das Pollenglykosid zu schützen. Ein völliger Schutz läßt sich dagegen durch wäßrige Auszüge aus Crocusnarben erzielen, wenn man diese einige Zeit auf die wäßrige Lösung des Pollenglykosids einwirken läßt, ehe man die Gameten zugibt. Da die Wirkung der Narbenauszüge durch Erhitzen verloren geht, ist es wahrscheinlich, daß sie eine *Glucosidase* enthalten, die das Pollenglykosid spaltet.

Durch 2n-Schwefelsäure wird das Glykosid aus Crocuspollen in der Hitze leicht hydrolysiert, wobei ein in Wasser schwer lösliches *Aglykon* in Nadeln auskristallisiert. Dieses gehört bestimmt nicht in die Reihe der Carotinoide. Es kann sich auch nicht um ein Bruchstück (Abbauprodukt) eines Carotinfarbstoffs handeln. Das Aglykon ist ohne jede Wirkung auf die Beweglichkeit von Chlamydomonas-Gameten. Es hat dafür die überraschende Eigenschaft, die ♀-Zellen von *Chlamydomonas eugametos f. synoica* kopulationsfähig gegenüber ♂-Zellen, d. h. weiblich zu machen. Hier liegt eine neue geschlechtsdeterminierende Verbindung vor, ein *Gynotermon*, das mit dem als solches bereits bekannten Pikrocrocin chemisch gar nichts gemeinsam hat und dieses an Wirksamkeit noch bedeutend übertrifft. Während man vom krist. Pikrocrocin aus Crocusnarben $\sim10^6$ Molekeln und von dem in Substanz noch nicht gefaßten natürlichen Gynotermon aus Chlamydomonas $\sim10^3$ Molekeln benötigt, genügen von dem Aglykon des Glykosids aus Crocuspollen ~10 Molekeln, um einer Zwitter-

[1]) R. KUHN, Z. angew. Chem. **53**, 1 (1940). — F. MOEWUS Erg. Biol. **18**, 287—356 (1941). — R. KUHN u. I. LÖW, Ber dtsch. chem. Ges. **74**, 219 (1941).

zelle gegenüber männlichen Gameten weiblichen Charakter aufzuprägen.

Heidelberg, Kaiser Wilhelm-Institut für Medizinische Forschung, den 24. März 1942. Institut für Chemie: Richard Kuhn. Irmentraut Löw. Institut für Biologie: Franz Moewus.

Läßt sich die Acetylen-Bindung enzymatisch hydrieren?[1])

Unter der Einwirkung von Bakterien und gärender Hefe werden, ebenso wie im tierischen Organismus, bestimmte Äthylenabkömmlinge hydriert, nämlich solche, die eine Doppelbindung α, β-ständig zu einem primären Hydroxyl oder Carbonyl enthalten[2]). Um die Möglichkeit einer enzymatischen Absättigung entsprechender Acetylene zu prüfen, wurden Propargylalkohol $HC \ddagger C \cdot CH_2OH$ und Butin-diol $HO \cdot CH_2 \cdot C \ddagger C \cdot CH_2 \cdot OH$ mit gärender Hefe behandelt[3]).

Die Lösung von 50 g *Propargylalkohol* in 1 l Bierwürze wurde im Laufe einer Stunde zu 1 l Brei einer untergärigen Bierhefe getropft. Dem Ansatz, dessen lebhafte Gärung durch den Alkohol keine merkbare Hemmung erlitt, setzte man während 48 Stunden weitere 3,2 l Bierwürze und 400 g Zucker zu. In Proben, die sofort nach der Alkoholzugabe und alle weiteren 12 Stunden bis zum Ende des Versuches entnommen wurden, wurde der Propargylalkohol, nach Abschleudern der Hefe, als Kupfer(1)-Salz gefällt und bestimmt. Nach Berücksichtigung der eingetretenen Verdünnungen ergab sich, daß der zugesetzte Propargylalkohol völlig unverändert geblieben war. Ein gleiches Ergebnis hatten drei weitere Ansätze unter abgeänderten Bedingungen.

Bei den gleichartig durchgeführten Versuchen mit *Butindiol* wurde das Acetylenderivat, in Ermangelung einer zuverlässigen Bestimmung im Gärversuch, präparativ zurückgewonnen. Nach dem Abschleudern der Hefezellen wurde die Gärflüssigkeit unter vermindertem Druck eingedampft, das im verbleibenden Sirup enthaltene Diol durch mehrfache Aufnahme in Äthanol von Salzen befreit und durch Vakuumdestillation gereinigt. In zwei verschiedenen Versuchen wurden über 95% der eingesetzten Diolmenge unverändert zurückerhalten.

Unter Versuchsbedingungen, die nach früheren Erfahrungen die Absättigung entsprechender Äthylenalkohole sicher herbeigeführt hätten, bleiben also die geprüften Acetylenalkohole unangegriffen. Danach ist das Fermentsystem der Äthylenhydrasen der Acetylenbindung gegenüber unwirksam. Dem organischen Stoffwechsel völlig fremd ist die Acetylenbindung nicht, denn Acetylenderivate — einige wenige — sind als Naturstoffe gefunden worden. Bei nichtenzymatischen Hydrierungen (sowohl durch katalytisch erregten wie durch „naszierenden" Wasserstoff) ist die dreifache C—C-Bindung im Vergleich zur doppelten bekanntlich stets reaktionsfähiger.

Würzburg, Chemisches Institut der Universität, den 7. April 1942. F. G. Fischer.

[1]) Biochemische Hydrierungen VIII.

[2]) F. G. Fischer u. H.-J. Bielig, Hoppe-Seylers Z. **266**, 73 (1940).

[3]) Ich verdanke diese Stoffe Herrn Dr. W. Reppe, I.G. Werk Ludwigshafen.

Anwendung der sauren und basischen Aluminiumoxydsäule zur Analyse von Eiweiß-Hydrolysaten.

Wie kürzlich gezeigt werden konnte[1]), lassen sich Gemische von sauren, basischen und neutralen Aminosäuren dadurch trennen, daß man die neutralen wäßrigen Lösungen durch eine Säule von Aluminiumoxyd, welches mit verdünnter Salzsäure vorbehandelt ist, d. h. eine „saure Säule" (s. S.), und anschließend durch eine „basische Säule" (b. S.) aus unvorbehandeltem Aluminiumoxyd laufen läßt. An die s. S. werden nur die *Amino-dicarbonsäuren*, an die b. S. nur die *Diamino-carbonsäuren* Arginin und Lysin adsorbiert, während die neutralen Aminosäuren und Histidin durch beide Säulen durchlaufen. Man durfte erwarten, daß sich durch Anwendung dieser Adsorptionsmethode ein Verfahren ausarbeiten ließe, das einen raschen Überblick über den Anteil an sauren, basischen und neutralen Aminosäuren in Eiweiß-Hydrolysaten gewährt. Dazu war es nötig, das Verhalten möglichst aller Eiweißbausteine gegen die beiden Adsorptionsmittel zu prüfen. In Tabelle 1 bedeutet +, daß die betreffende Aminosäure adsorbiert wird, das Zeichen —, daß sie ins Filtrat geht.

Tabelle 1. Verhalten der einzelnen Eiweißbausteine an der sauren Al_2O_3-Säule (s. S.) und basischen Al_2O_3-Säule (b. S.).

Substanz	s. S.	b. S.	Substanz	s. S.	b. S.
Glykokoll	—	—	Cystein	—	—
Alanin	—	—	Cystin	+	—
Serin	—	—	Asparaginsäure	+	—
Valin	—	—	Glutaminsäure	+	—
Leucin	—	—	Oxyglutaminsäure	+	—
Isoleucin	—	—	Histidin*)	—	—
Norleucin	—	—	Arginin	—	+
Prolin	—	—	Ornithin	—	+
Oxyprolin	—	—	Lysin	—	+
Phenylalanin	—	—	Glukosamin	—	—
Tyrosin	—	—	Glukose	—	—
Methionin	—	—	Phosphorsäure	+	—
Tryptophan	—	—	Schwefelsäure	+	—
Threonin	—	—			

*) geht erst bei längerem Nachwaschen ins Filtrat.

Das Verhalten der *Oxyglutaminsäure*, welche nicht zugänglich war, konnte nicht geprüft werden, doch wird sie aus Analogiegründen zu den anderen Dicarbonsäuren mit großer Wahrscheinlichkeit an der s. S. zurückgehalten. Überraschend ist die Adsorbierbarkeit des *Cystins*, das ja keine sauren Eigenschaften aufweist, jedoch ein schwer lösliches Aluminiumsalz zu bilden scheint. Allerdings halten 5 g des sauren Aluminiumoxyds nur etwa 5 mg davon fest. *Tryptophan* erleidet unter den Bedingungen einer sauren Eiweiß-Hydrolyse eine weitgehende Zersetzung. Es mußte daher festgestellt werden, ob unter den Zersetzungsprodukten sich solche befinden, die an die s. S. oder b. S. adsorbiert werden. Wir fanden, daß nach 16stündiger „Hydrolyse" mit konz. Salzsäure etwa $^1/_4$ des Amino-N des Tryptophans in eine Substanz übergegangen war, die an die s. S. adsorbiert wird. Dieses Umsetzungsprodukt gab stark positive Ninhydrinreaktion, jedoch nicht mehr die für Tryptophan charakteristische Farbreaktion nach Adamkiewics-Hopkins-Cole. Der neutrale Anteil dürfte zum größten Teil aus unverändertem Tryptophan bestanden haben. Der Wert von $^1/_4$ darf jedoch bei Eiweiß-Hydrolysaten nicht als Korrektur angebracht werden, da die Zersetzung des Tryptophans bekanntlich durch Eiweiß-Hydrolysenprodukte stark beschleunigt wird[2]).

Trennung von Glukose und Aminosäuren.

In 80—90proz. Alkohol lassen sich die neutralen Aminosäuren wie normale einbasische Säuren titrieren. Es war deshalb zu erwarten, daß sich die Anionen der Mononatriumsalze von Aminosäuren in 80proz. *Alkohol* auch an die s. S. adsorbieren ließen. Das ist tatsächlich der Fall; hingegen wird Glukose unter denselben Bedingungen nicht festgehalten. Läßt man daher ein Gemisch von 10 mg Alanin + 20 mg Glukose in 80proz. Alkohol, welches mit 80proz. alkoholischer Lauge gegen Phenolphthalein neutralisiert war, durch 4 g s. S. laufen, die mit 80proz. Alkohol ausgewaschen war, und spült mit 30 ccm desselben Lösungsmittels nach, so findet man im Filtrat 96—98% der eingesetzten Glukosemenge wieder. Die Aminosäure läßt sich mit Wasser leicht aus der Säule eluieren. Auch die basischen Aminosäuren, sowie Glukosamin, werden unter denselben Bedingungen an die s. S. adsorbiert.

Analyse von Eiweiß-Hydrolysaten.

Um die Verwendbarkeit der sauren und der basischen Säule zur Analyse von Eiweiß-Hydrolysaten zu prüfen, wurde zunächst Casein (Hammarsten) wie bei R. Kuhn und P. Desnuelle[3]) angegeben, der 40stündigen Hydrolyse mit 20proz. Schwefelsäure unterworfen und zur Analyse vorbereitet.

Die ammoniak- und sulfatfreie, neutrale farblose Lösung enthielt das Aminosäuregemisch aus 8 mg Casein in 1 ccm. Davon wurden 10 ccm der Analyse unterworfen. Sie wurde durch 6 g s. S. in ein 25 ccm-Meßkölbchen filtriert. Dann

wurde bis zur Marke mit Wasser nachgewaschen. 4,0 ccm dieses Filtrates (F_1) wurden zur Bestimmung des Amino-N nach VAN SLYKE verwendet. Die s. S. wurde dann mit 0,5 n-NaOH eluiert, bis das Eluat etwa 12 ccm betrug, worauf es mit Eisessig auf 15 ccm aufgefüllt wurde (E_1). 20 ccm F_1 wurden zur Adsorption an die b. S. verwendet. Sie wurden mit einigen Tropfen 0,5 n-NaOH auf p_H 7,0 gebracht und durch eine Säule von 100 g basischem Aluminiumoxyd laufen gelassen. Die ersten 25 ccm des Filtrats, welche noch keine Ninhydrin-Reaktion gaben, wurden verworfen. Dann wurde mit 100 ccm abgekochtem Wasser nachgewaschen. Das Filtrat (F_2), welches die neutralen Aminosäuren + Histidin enthält, wurde im Vakuum nach Zusatz von etwas Essigsäure auf 20 ccm eingedampft und zur Amino-N-Bestimmung gebracht. Aus der b. S. lassen sich mit 50 ccm 2 n-Essigsäure die weiteren basischen Aminosäuren eluieren, deren Amino-N nach Eindampfen des Eluats auf 15 ccm (E_2) bestimmt wurde. In Tabelle 2 sind die Werte für einen Analysengang zusammengestellt.

Tabelle 2. Analyse eines Hydrolysats von Casein (HAMMARSTEN).

Fraktion	ccm	mg NH_2—N	mg NH_2—N in 100 mg Casein
Hydrolysat von 80 mg Casein (A)	10	7,31	9,15
F_1 (neutrale + bas. Aminosäuren)	25	5,48	6,85
E_1 (saure Aminosäuren + Cystin)	15	1,80	*2,25*
F_2 (neutrale Aminosäuren + Histidin)	20	3,89	4,86
E_2 (Arginin + Lysin)	15	1,52	*1,90*
$A - F_1$			*2,30*
$F_1 - F_2$			*1,99*

Man sieht, daß $E_1 = A - F_1$ und $E_2 = F_1 - F_2$ ist. Es stimmt also der Amino-N-Wert, wie er durch Elution der s. S. erhalten wurde, mit dem Wert überein, um den das Filtrat der s. S. (F_1) an Amino-N ärmer ist als die Ausgangslösung A. Dieselbe Übereinstimmung herrscht zwischen der aus der b. S. eluierten Amino-N-Menge und derjenigen, um die das Filtrat der b. S. (F_2) weniger enthält, als das zur Adsorption an die b. S. gebrachte Filtrat F_1.

Zu einer bedeutenden Vereinfachung des Analysenganges gelangte man, als gefunden wurde, daß auch größere Mengen von Chlor-Ionen die Adsorptionen nicht stören. Damit war die Möglichkeit gegeben, *Salzsäure zur Hydrolyse der Proteine* heranzuziehen. Man erspart sich dadurch das immer mit Substanzverlusten verknüpfte Ausfällen von Bariumsulfat, welches hartnäckig Aminosäuren festhält.

Nach weitgehendem Abdampfen im Vakuum, Aufnehmen in Wasser, Entfernen des im HCl-Hydrolysat vorhandenen Ammoniaks durch Einengen der schwach natron-alkalischen Lösung im Vakuum bei 40° und Neutralisieren wurde pro 100 mg Protein auf 10 ccm mit Wasser aufgefüllt. Über Nacht hatte sich in den meisten Fällen die Huminsubstanz in Flocken ausgeschieden, von denen abfiltriert wurde. Die schwach gefärbten Hydrolysate kamen sodann zur Analyse.

Die Tabelle 3 gibt die für verschiedene wasserfreie Proteine ermittelten Werte im Vergleich mit den aus der Literatur entnommenen an.

Wie man sieht, stimmen die nach Schwefelsäure-Hydrolyse bei Casein gefundenen NH_2—N-Mengen sehr gut mit den Werten aus der Literatur überein, welche auch an Schwefelsäure-Hydrolysaten gewonnen sind. Die kürzere Salzsäure-Hydrolyse liefert für NH_2—N an s. S. viel höhere Werte. Ebenso liegen auch die Amino-dicarbonsäurewerte für Ovalbumin höher. Die Werte für Globin sind wegen der verschiedenen Herkunft nicht vergleichbar. Goldblatt-Gelatine lieferte für beide NH_2—N-Fraktionen etwas höhere Werte, während eine Gelatine aus anderem Material als Knochen eine ziemlich abweichende Zusammensetzung aufweist. Die von uns für Zein ermittelten Zahlen sind mit denen der Literatur in guter Übereinstimmung.

Beim Casein fällt die Diskrepanz zwischen den Werten der sauren Aminosäuren nach 40stündigem Kochen mit 20proz. H_2SO_4 und nach 12stündigem Kochen mit konz. HCl auf. Es gibt zwei Gründe, welche zusammen diese Unterschiede erklären können: 1. Die Amino-dicarbonsäuren, besonders Oxyglutaminsäure, werden an das beim Entfernen der Schwefelsäure mit Baryt ausfallende Bariumsulfat stark adsorbiert und lassen sich mit Wasser daraus nicht entfernen[12, 13, 14]). 2. Reine Oxyglutaminsäure spaltet beim Kochen mit 25proz. H_2SO_4 in 31½ Stunden 22% ihres Stickstoffs als NH_3 ab[15]). Der Umfang dieser Zersetzung kann möglicherweise im Gemisch mit den anderen Hydrolyseprodukten noch größer sein. Die von uns erhaltenen niederen Werte nach 40stündiger Hydrolyse mit Schwefelsäure stimmen hinreichend mit der Summe von Glutaminsäure + Asparaginsäure + Cystin im Casein überein, während das kürzer und mit HCl hydrolysierte Casein Werte liefert, die größer sind um die Größenordnung des Amino-N-Gehalts der im Casein enthaltenen *Oxyglutaminsäure*[11]). Deshalb dürfte der Unterschied in den Werten der sauren Aminosäuren zwischen kurzer Hydrolyse mit HCl und längerer mit H_2SO_4 hauptsächlich im Verhalten der Oxyglutaminsäure zu suchen sein. Da alle anderen Proteine der kurzen Hydrolyse mit HCl unterworfen waren, dürfte sich ihr Mehrgehalt an Amino-dicarbonsäure-N gegenüber den Literaturwerten zum großen Teil auf Oxyglutaminsäure beziehen. Wo der Oxyglutaminsäuregehalt eines Proteins bekannt war und in die Berechnung des Amino-dicarbonsäure-N einbezogen werden konnte (Casein, Zein), weist dieser mit dem hier gefundenen Wert (NH_2—N in s. S.) gute *Übereinstimmung* auf. Auch kann die genauere Untersuchung des Verhaltens von Tryptophan noch zu kleinen Korrekturen Anlaß geben.

Über den Gehalt der Proteine an Arginin + Lysin herrscht in der Literatur keine vollkommene Einigkeit. Wenn man bedenkt, daß die von anderer Seite und von uns untersuchten Eiweißproben hinsichtlich ihres Reinheitsgrades und ihrer Herkunft nicht immer gleich gewesen sind, so wird man den Abweichungen unserer Werte von den Angaben der Literatur nicht allzuviel Gewicht beilegen.

Für einen Analysengang war hier die Menge von 100 mg Eiweiß benutzt worden. Man kann jedoch, wie aus den

Tabelle 3. Analyse der verschiedenen Proteine.

Protein (100 mg) und Art der Hydrolyse	NH_2—N in s. S. (mg) gef.	Lit.-Werte für Glutamin- + Asparaginsäure + Cystin*)	NH_2—N in b. S. (mg) gef.	Lit.-Werte für Arginin + Lysin
Casein (HAMMARSTEN), 40 Stunden, 20% H_2SO_4	2,21 2,47 2,25 2,25 2,30	2,53[4]); 2,30[3, 5])	1,90 1,90 1,99 1,90	1,91[4]); 1,32[3])
Casein (HAMMARSTEN), 12 Stunden konz. HCl	3,34 2,98	[3,43[4]); 3,20[4, 5])]	1,60	
Ovalbumin, 12 Stunden konz. HCl	2,76 2,43	2,13[4, 6])	1,66 1,59 1,62 1,62	1,12[4]); 1,98[7])
	(Mensch)	(Pferd)	(Mensch)	(Pferd)
Globin, 12 Stunden konz. HCl	1,61 1,60	0,78[4, 6])	1,76 1,89	1,24[4]); 1,90[8])
Gelatine, 12 Stunden konz. HCl (Goldblatt)	1,29 1,32	0,93[4])	2,08 2,06	1,69[4]); 1,79[9]) 1,88[10])
Gelatine (Pott & Co.)	1,66 1,61		1,31 1,10	
Zein, 12 Stunden konz. HCl	3,54 3,64	[3,50)[4]]	0,24 0,30	0,15[4])

*) Soweit bekannt, sind auch die Werte für Oxyglutaminsäure[11]) hinzugezählt und die Summen in eckigen Klammern angeführt.

Volumangaben der Tabelle 2 ersichtlich ist, auch bequem mit einem Bruchteil dieser Einwaage auskommen. Dabei werden die zur Verfügung stehenden Flüssigkeitsmengen kleiner, reichen aber noch gut für die NH_2—N-Bestimmung nach VAN SLYKE aus, so daß es möglich sein dürfte, mit 50 mg Eiweiß eine Doppelbestimmung auszuführen. Es läßt sich voraussehen, daß bei Anwendung der Mikro-VAN SLYKE-Technik im WARBURG-Apparat[16]) 20 mg von einem Protein genügen dürften, um einen raschen Überblick über die Verteilung der Aminosäuren zu gewinnen.

Heidelberg, Institut für Chemie, Kaiser Wilhelm-Institut für medizinische Forschung. THEODOR WIELAND.

[1]) TH. WIELAND, Hoppe-Seylers Z. 273, 24 (1942).
[2]) T. YORITAKA, Hoppe-Seylers Z. 270, 44 (1941).
[3]) Ber. dtsch. chem. Ges. 70, 1907 (1937).
[4]) E. J. COHN, Erg. Physiol. 33, u. zw. S. 870/71 (1931).
[5]) D. B. JONES u. O. MOELLER, J. of biol. Chem. 79, 429 (1928).
[6]) R. KUHN, L. BIRKOFER u. F. W. QUACKENBUSH, Ber. dtsch. chem. Ges. 72, 407 (1939).
[7]) R. A. H. PLIMMER u. J. L. ROSEDALE, Biochemic. J. 19, 1015 (1925).
[8]) A. HUNTER u. H. BORSOOK, J. of biol. Chem. 57, 507 (1923).
[9]) A. HUNTER u. J. A. DAUPHINEE, J. of biol. Chem. 85, 627 (1929).
[10]) J. L. ROSEDALE u. G. A. DA SILVA, Biochemic. J. 26, 369 (1932).
[11]) H. D. DAKIN, Biochemic. J. 12, 290 (1918).
[12]) F. W. FOREMAN, Biochemic. J. 13, u. zw. 388 (1919).
[13]) J. M. GULLAND u. C. J. O. R. MORRIS, J. chem. Soc. Lond. 1934, 1644.
[14]) E. ABDERHALDEN u. G. PITSCHAK, Hoppe-Seylers Z. 265, 31 (1940).
[15]) F. KNOOP u. Mitarb., Hoppe-Seylers Z. 239, 30 (1936).
[16]) O. WARBURG, W. CHRISTIAN u. A. GRIESE, Biochem. Z. 282, 184 (1935).

Besprechung.

WALDMEIER, M., **Ergebnisse und Probleme der Sonnenforschung.** (Probleme der kosmischen Physik. Hrsg. v. Christian Jensen. Bd. XXII.) Leipzig: Akad. Verlagsgesellschaft Becker & Erler Kom.-Ges. 1941. 264 S., 102 Figuren. Preis br. RM 18.40; geb. RM 20.—.

In der deutschsprachigen Literatur über die Physik der Sonne bestand bis vor kurzem eine empfindliche Lücke. Zwar findet sich in jedem Lehrbuch der Astronomie oder Astrophysik ein mehr oder weniger ausführliches Kapitel über dies Gebiet, aber eine neuzeitlichen Anforderungen entsprechende, umfangreichere Zusammenstellung gab es nicht. Ein Teil dieser Lücke wurde ausgefüllt durch das Erscheinen des groß angelegten Buches von A. UNSÖLD über Sternatmosphären, in dem die Sonne im weiteren Rahmen des Gesamtgebietes der Sternatmosphären bevorzugt behandelt ist. Dies grundlegende Werk ist aber in erster Linie theoretisch eingestellt und deshalb nicht für jeden, speziell für die Sonne interessierten Leser eine leicht lesbare Quelle der Information. Das vorliegende Buch von M. WALDMEIER füllt einen weiteren Teil dieser Lücke in sehr erfreulicher Weise aus, insofern als in demselben die Ergebnisse und Probleme der speziellen Sonnenforschung in Form einer Monographie auf rund 250 Seiten in knapper und im allgemeinen leicht verständlicher Form dem neuesten Stande der Forschung entsprechend dargestellt sind. Allerdings zwang dabei der zur Verfügung stehende Raum wieder zu einer Beschränkung, die einen nicht unwesentlichen Teil der Lücke noch offenläßt. Die Methoden der Sonnenforschung sind in diesem Buche nicht behandelt. Man mag dies bedauern, muß aber dem Verfasser recht geben bei seinem diesbezüglichen Entschluß. Denn dies Buch soll nicht nur dem Sonnenforscher selbst, sondern insbesondere auch denen zur Information dienen, die sich sozusagen nebenamtlich für die Sonne interessieren, also z. B. den Meteorologen, Geophysikern, Geologen. Und diese interessieren natürlich in erster Linie die Ergebnisse und weniger die Methoden der Forschung.

Die Art der Darstellung ist so gehalten, daß die grundlegenden Kenntnisse der experimentellen und theoretischen Physik beim Leser vorausgesetzt werden. Theoretische Darlegungen werden nicht vermieden, aber in einer Form gebracht, die nicht zu hohe Anforderungen an die mathematischen Kenntnisse des Lesers stellt. Die Darstellung ist knapp und streng sachlich, Literaturhinweise ermöglichen das Zurückgreifen auf Originalarbeiten für den, der sich über Einzelheiten genauer informieren will.

Die Zweiteilung der Darstellung in Ergebnisse und Probleme ist so durchgeführt, daß naturgemäß den Ergebnissen und ihrer Deutung der Löwenanteil zufällt und die Diskussion des problematischen Charakters mancher Ergebnisse und der Probleme, die sich für die weitere Forschung ergeben, zwar keineswegs übergangen, aber doch nicht in den Vordergrund gestellt wird. Daß der Verf. bei der Darstellung der Ergebnisse seine eigenen Arbeiten ausführlich bespricht und bei der Darstellung der Probleme seine eigene Auffassung vertritt, ist ein Recht, das man ihm in einer Monographie ohne weiteres zubilligen wird.

Der Stoff ist in zehn Kapitel gegliedert, in denen praktisch alle Gebiete der Sonnenphysik enthalten sind. Wie der Verf. aber im Vorwort betont, sind die veränderlichen Erscheinungen der Sonne, also Granulation, Flecken, Fackeln, Protuberanzen, Eruptionen, Korona usw., bevorzugt behandelt. Das entspricht der speziellen Forschungsrichtung des Verf. und der Sternwarte Zürich, aus der der Verf. wissenschaftlich hervorgegangen ist. Dies Institut ist ja in der ganzen Welt berühmt und bekannt geworden durch die dort ausgeführten grundlegenden Arbeiten über Sonnenflecken und damit zusammenhängende Erscheinungen und ist auch heute noch die Zentralstelle, an der das gesamte Beobachtungsmaterial gesammelt, gesichtet und veröffentlicht wird. So wird gerade der Leser, der sich für diese hochinteressanten Erscheinungen interessiert, in WALDMEIERS Buch eine Behandlung finden, die dem neuesten Stand der Forschung angepaßt ist und viele Ergebnisse enthält, die bisher nur in Originalarbeiten nachgelesen werden konnten. Aber auch die übrigen Teile des Buches, also die Kapitel über Strahlung, inneren Aufbau und Energieerzeugung der Sonne geben trotz knappster Darstellung alles Wesentliche und vermitteln einen klaren Überblick über den Stand der Forschung. Dagegen ist das Kapitel über das Linienspektrum der Sonne zu kurz, um allen Anforderungen gerecht zu werden. Leider hat die Beschränkung des Umfanges auch dazu geführt, daß die Ergebnisse und Probleme der Zusammenhänge zwischen solaren und terrestrischen Erscheinungen übergangen werden mußten. Da dies Gebiet zur Zeit in einer interessanten Phase der Entwicklung steht, ist das Fehlen einer Darstellung zu bedauern. Vielleicht wird aber CH. JENSEN, der Herausgeber der Sammlung „Probleme der kosmischen Physik", zu der das WALDMEIERsche Buch den XXII. Band bildet, die Anregung aufgreifen, über dies Gebiet einen besonderen Band herauszubringen.

Das WALDMEIERsche Buch bedeutet also eine wohlgelungene Arbeit. Jeder für die Sonnenforschung interessierte Leser wird hier zuverlässige Belehrung finden.

W. GROTRIAN.

Herausgeber und verantwortlicher Redakteur: FRITZ SÜPFERT, Berlin W 9.
Springer-Verlag in Berlin W 9. — Druck der Spamer A.-G. in Leipzig.